

Université de Montréal

**Impact de *Heterodera glycines* sur la réaction de défense du
soya (*Glycine max*) et influence sur la gestion de *Aphis*
glycines dans un contexte climatique actuel et futur.**

Par

Lydia Maheux

Département de Sciences Biologiques

Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté à la Faculté des Arts et Sciences

en vue de l'obtention du grade de

M. Sc. en Sciences Biologiques

Septembre, 2018

© Lydia Maheux, 2018

Résumé

La culture du soya (*Glycine max*) est l'une des plus importantes au Québec depuis la dernière décennie. Néanmoins, les changements climatiques et les échanges commerciaux ont permis l'établissement de nouveaux ravageurs, mettant ainsi la culture en péril. C'est le cas du puceron du soya, *Aphis glycines* et du nématode à kyste du soya, *Heterodera glycines* qui ont une aire de distribution commune au Québec depuis 2013. Les interactions entre ces organismes sont peu connues et pourraient avoir un impact négatif sur la culture, notamment dans un contexte de changements climatiques. Nous avons étudié l'effet de l'infestation du nématode sur les traits d'histoire de vie du puceron sur différents cultivars, sensibles et résistants aux nématodes, et dans différentes conditions climatiques. Aucun effet du nématode n'a été détecté sur le temps de développement, la longévité et la fécondité du puceron. Le séquençage du transcriptome de feuilles de soya a mis en évidence 36 gènes différemment exprimés lors de la présence du nématode sur les racines. Parmi ces gènes, 23 sont directement liés à l'activation, au transport ou à la synthèse d'acide salicylique, une hormone de défense naturellement produite par la plante lors d'une infestation de pucerons. Toutefois, cette dernière n'a pas d'impact négatif sur les traits d'histoire de vie de l'arthropode dans les conditions climatiques actuelles ou en simulant la concentration de CO₂ de 2050. Il semble que le puceron soit peu sensible à cette phytohormone, mais qu'elle pourrait avoir un effet répulsif chez les pucerons ailés fondateurs lors du choix de la plante à coloniser au printemps.

Mots-clés : RNAseq, dynamique des populations, réaction de défense végétale, parasitisme, interaction souterraine/aérienne, trait d'histoire de vie

Abstract

Soybean (*Glycine max*) is one of the major crops in Québec and has seen its production increase in the last decade. However, climate change and international trade have resulted in new pest establishments, putting the culture at risk. The soybean aphid, *Aphis glycines*, and the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*, are the most damaging soybean pests worldwide, and are both present in Québec since 2013. The interactions between these organisms are barely known and could have a negative impact on soybean culture, especially in a climate change context. We have studied the effect of nematode infestation on aphid life-history traits on different cultivars, susceptible and resistant to nematodes, under different climatic conditions. No effect of the nematode was detected on the development time, longevity and fecundity of the aphid. However, soybean transcriptome sequencing showed 36 genes differentially expressed in the leaves in presence of the nematode on the root system. Among these, 23 genes are directly related to the activation, transport or synthesis of salicylic acid, a defense hormone naturally produced by the plant during aphid infestation. However, the latter does not have a negative impact on arthropod life history traits under current climatic conditions or by simulating the CO₂ concentration of 2050. It seems that the aphid is not very sensitive to this hormone, but that it could have a repulsive effect on the alate individuals when choosing establishment plants in the spring.

Keywords : RNAseq, population dynamics, plant defense, parasitism, above-belowground interactions, life history traits.

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	ii
Table des matières.....	iii
Liste des tableaux.....	vi
Liste des figures	vii
Liste des sigles	x
Liste des abréviations.....	xi
Remerciements.....	xiii
Introduction générale	14
Chapitre 1 : Revue de littérature	16
1.1 La plante hôte : Le soya	16
1.1.1 État de la culture en Amérique du Nord	16
1.1.2 Phénologie du soya	17
1.2 Le parasite racinaire : Le nématode à kyste du soya	19
1.2.1 Répartition géographique en Amérique du Nord et écologie	19
1.2.2 Impacts sur la plante hôte	22
1.2.3 Moyens de lutte contre le nématode à kyste du soya.....	23
1.2.4 État de la situation du nématode à kyste du soya au Québec.....	27
1.3 Le parasite foliaire : Le puceron du soya.....	29
1.3.1 Distribution géographique en Amérique du Nord et écologie	29
1.3.2 Impacts sur la plante hôte	30
1.3.3 Moyens de lutte contre le puceron du soya.....	31
1.3.4 État de la situation du puceron du soya au Québec	32
1.4 Interactions entre les parasites foliaires et racinaires.....	34
1.4.1 Généralités	34
1.4.2 L'interaction entre le nématode à kyste du soya et le puceron du soya.....	34
1.5 L'immunité végétale via la résistance systémique acquise.....	39
1.5.1 L'acide salicylique.....	41

1.5.2	L'acide jasmonique	42
1.5.3	L'auxine	43
1.5.4	L'éthylène	43
1.5.5	L'acide abscissique	44
1.5.6	Défense des plantes contre les nématodes et impact sur les ravageurs aériens	44
1.6	Changements climatiques globaux et interactions entre le puceron du soya et le nématode à kyste du soya	46
1.6.1	Changements climatiques globaux	46
1.6.2	Incidence de l'augmentation de CO ₂ sur les plantes.....	47
1.6.3	Altération des interactions entre les phytophages foliaires et racinaires	48
Chapitre 2 : Objectifs et Hypothèses		50
Chapitre 3 : Influence du nématode à kyste, <i>Heterodera glycines</i> , sur la performance du puceron, <i>Aphis glycines</i> , sur des cultivars de soya sensibles ou résistants au nématode dans un milieu enrichi en CO ₂		52
3.1	Résumé.....	52
3.2	Introduction.....	52
3.3	Matériel et méthodes.....	55
	Élevage des pucerons et des nématodes.....	55
	Tests de performance du PS.....	57
	Analyses statistiques	60
3.4	Résultats	60
3.5	Discussion	70
3.6	Conclusion	73
Chapitre 4 : Qualification et quantification de la réponse systémique de la plante suite à l'infestation par le nématode à kyste du soya		74
4.1	Résumé.....	74
4.2	Introduction.....	74
4.3	Matériel et méthodes.....	76
	Matériel végétal	76
	Plan d'expérience.....	76
	Séquençage de l'ARN (RNA-Seq)	77

Analyses bioinformatiques et statistiques	77
4.4 Résultats	78
4.5 Discussion	85
4.5 Conclusion	90
Chapitre 5 : Conclusion générale	91
5.1 Aspect fondamental	91
5.2 Aspect appliqué	93
Bibliographie	95

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Caractéristiques et correspondances BBCH telles que décrites par Zadoks <i>et al.</i> (1974) des stades phénologiques du soya (Fehr <i>et al.</i> 1971, Munger <i>et al.</i> 1997).	18
Tableau 1.2 : Lignées de soya indicatrices utilisées pour déterminer le HG type d'une population du nématode à kyste du soya.	25
Tableau 1.3 : Résumé de la littérature sur l'interaction NKS-PS	39
Tableau 3.1 : Seuils pour déterminer le niveau de résistance d'un cultivar à une population de NKS donnée. Tiré de Niblack <i>et al.</i> (2009) préalablement modifié de Schmitt et Shannon (1992).....	57
Tableau 3.2 : « Female Index » des cultivars résistants lorsque comparés au cultivar sensible <i>Ussurijscaja 431</i> . La moyenne et l'écart-type standard ont été calculés en séparant les répétitions de l'expérience dans le temps.	63
Tableau 3.3 : Résultats du test de Wilcoxon pour l'impact des cultivars infestés de NKS sur le temps de développement du PS.	66
Tableau 4.1 : Résumé des séquences obtenues pour chacun des échantillons.	78
Tableau 4.2 : Identification des gènes différentiellement exprimés en présence de nématodes.	83

Liste des figures

Figure 1.1 : Évolution temporelle des superficies cultivées en soya dans les différentes provinces productrices du Canada (Statistiques Canada 2017).	17
Figure 1.2 : Les stades phénologiques du soya. Tiré de McWilliams <i>et al.</i> (2009).....	18
Figure 1.3 : Répartition du nématode à kyste du soya aux États-Unis et au Canada en 2017. Les régions infestées sont représentées en rouge. Tiré de Tylka et Marett (2017).....	20
Figure 1.4 : Cycle de vie du nématode à kyste du soya. Adapté par Gendron St-Marseille 2013, dessiné par Agrios (2005)	22
Figure 1.5 : Infestation de la racine de deux cultivars résistants (PI88788 et Peking) par le nématode à kyste du soya au cours du temps. a) Avant l'infestation. b) 3 jours post-inoculation, phase de parasitisme (les astérisques montrent le syncytium en développement) c) 6 jours post-inoculation, phase de résistance (les flèches montrent le syncytium en dégénérescence d) 9 jours post-inoculation (les flèches montrent le syncytium en dégénérescence). Tiré de Klink <i>et al.</i> (2009b) et Klink <i>et al.</i> (2010)	27
Figure 1.6 : Distribution des champs de soya échantillonnés de 2013 à 2015 et sites où la présence du NKS a été confirmée. Tiré de Mimee <i>et al.</i> (2016)	28
Figure 1.7 : Cycle de vie du puceron du soya. (A) Femelle fondatrice sur nerprun. (B) Femelle vivipare et aptère sur nerprun. (C) Femelle vivipare et ailée migrant du nerprun au soya à la fin du printemps. (D) Femelle vivipare et aptère sur soya. (E) Femelle ailée et migratrice estivale. (F) Gynopare, femelle migrante du soya au nerprun. (G) Mâle migrant du soya au nerprun. (H) Femelle ovipare sur nerprun. (I) Œuf hivernant sur le nerprun. Tiré de Jean <i>et al.</i> (2010).....	30
Figure 1.8 : Distribution saisonnière du nombre moyen de PS par plant Source : RAP Grandes Cultures, MAPAQ.....	33
Figure 1.9 : Aire de répartition de <i>Heterodera glycines</i> et <i>Aphis glycines</i> aux États-Unis. Les comtés où l'on retrouve seulement <i>A. glycines</i> sont représentés en jaune, ceux où l'on retrouve seulement <i>H. glycines</i> en rouge et ceux où les deux ravageurs sont présents en orange. Tiré de McCarville (2014).....	35

Figure 1.10: L'immunité innée primaire peut être locale (A) ou systémique (B) en fonction de la façon dont le signal de départ est perçu. Modifié de Henry <i>et al.</i> (2012).....	41
Figure 3.1 : Dispositif expérimental. a) Chaudières remplies de « cone-tainers ». b) Chaudière avant l'installation des « clip-cages ». c) clip-cages.....	58
Figure 3.2: Nombre moyen de kystes de NKS par plant chez deux cultivars sensibles (S) et deux résistants (R) au NKS dans les concentrations de CO ₂ actuelles (400 ppm) et en conditions de CO ₂ enrichies. Les barres verticales représentent l'erreur-type. Des lettres différentes au-dessus des histogrammes représentent des valeurs significativement différentes suite à une ANOVA et comparaison multiple avec test de Duncan	62
Figure 3.3 : Impact de la présence du nématode à kyste du soja sur les traits d'histoire de vie du puceron du soja sur deux cultivars sensibles au nématode à kyste du soja : a) Temps de développement; b) Longévité; c) Fécondité totale; d) Fécondité quotidienne. Les barres verticales représentent l'erreur-type.	65
Figure 3.4: Impact des cultivars sensibles (en violet) ou résistants (en orange) sur les traits d'histoire de vie du puceron du soja en présence du nématode à kyste du soja : a) Temps de développement; b) Longévité; c) Fécondité totale; d) Fécondité quotidienne. Les barres verticales représentent l'erreur-type.	67
Figure 3.5 : Impact de la concentration de CO ₂ atmosphérique sur les traits d'histoire de vie de puceron du soja sur cultivars résistants en présence du nématode à kyste du soja : a) Temps de développement; b) Longévité des adultes; c) Fécondité totale; d) Fécondité quotidienne. Les barres verticales représentent l'erreur-type. Les lettres différentes au-dessus des histogrammes représentent des valeurs significativement différentes suite à un test de Wilcoxon.....	69
Figure 4.1: Niveaux d'expression foliaire des gènes de soja différentiellement exprimés (n = 7814) entre un cultivar résistant (<i>Res.</i>) ou sensible (<i>Sen.</i>) avant l'inoculation avec le nématode à kyste du soja (T0), 7 jours (T7) ou 14 jours (T14) suite à l'inoculation (<i>inocule</i>) ou chez un témoin non-inoculé (<i>Non-inocule</i>). La formation des groupes a été réalisée à partir de la distance euclidienne.	80
Figure 4.2 : Niveaux d'expression foliaire des gènes différentiellement exprimés (n = 36) en présence de nématodes sur les racines d'un cultivar de soja résistant (<i>Res.</i>) ou sensible (<i>Sen.</i>) après 7 jours (T7) ou 14 jours (T14) suite à l'infestation (<i>Inocule</i>) ou chez le témoin non-	

inoculé (Non.Inocule). Le niveau d'expression a été calculé par rapport au temps 0 pour chaque cultivar. Seuls les résultats significatifs suivant l'analyse de contrastes sont présentés. La formation des groupes a été réalisée à partir de la distance euclidienne. 82

Liste des sigles

AAB : Acide abscissique

AGP : protéine arabinogalactane

DAMP : Motifs moléculaires associés aux dommages à la plante

DTI : Immunité déclenchée par les dommages à la plante

ETI : Immunité déclenchée par les effecteurs

IRS : Résistance systémique induite

JA : Acide jasmonique

MAMP : Motifs moléculaires associés aux micro-organismes auxiliaires

MeJA : Methyl-jasmonate

NKS : Nématode à kyste du soya

PAMP : Motifs moléculaires associés aux pathogènes

PCR : Réaction en chaîne par polymérase

PS : Puceron du soya

PTI : Immunité déclenchée par les pathogènes

qPCR : Réaction en chaîne par polymérase quantitative

SA : Acide salicylique

SAR : Résistance systémique acquise

VOC : Composé organique volatile

Liste des abréviations

Aux : Auxine

ET : Éthylène

RNA-seq : Séquençage de l'ARN

On dit que le battement d'ailes d'un papillon peut engendrer un
typhon à l'autre bout du monde.

L'effet papillon, Evan Treborn

Remerciements

Cette maîtrise de recherche a été réalisée à l'aide du programme des adjoints de recherche (PAR) du gouvernement fédéral du Canada. Les travaux de recherche ont eu lieu au Centre de Recherche et Développement de Saint-Jean-sur-Richelieu d'Agriculture et d'Agroalimentaire Canada, à Saint-Jean-sur-Richelieu, Québec, Canada.

J'adresse mes sincères remerciements aux personnes qui m'ont aidée dans la réalisation de ce mémoire. Tout d'abord, j'aimerais remercier mes directeurs de recherche Benjamin Mimee, Jacques Brodeur et Annie-Ève Gagnon. Leurs conseils et leur support furent d'une aide précieuse tout au long de mes études graduées.

Je désire également remercier tous les techniciens du laboratoire d'Agriculture et Agroalimentaire Canada à St-Jean-sur-Richelieu : Nathalie Dauphinais, Pierre-Yves Véronneau, Étienne Lord, Joël Lafond-Lapalme et, particulièrement, Éléonore Tremblay pour leur assistance technique, leur écoute et leurs précieux conseils tout au long de mon cheminement. Merci aussi à Josée Doyon du laboratoire de l'IRBV pour ses conseils d'élevage de pucerons.

Je salue aussi tous les stagiaires qui ont participé à mon projet. Sans vous, les bioessais auraient été beaucoup plus fastidieux et chronophage. Un merci particulier à Guillaume Trépanier et Julio Alexander Bran Barrera pour avoir accepté de sacrifier de nombreuses fins de semaine pour compter des pucerons.

Finalement, j'aimerais remercier tous les membres de ma famille et mes amis pour leurs encouragements et leur soutien, sans oublier tous les autres étudiants gradués du laboratoire d'Agriculture et Agroalimentaire Canada sans qui les 5 à 7 auraient été beaucoup moins divertissants!

Introduction générale

La culture du soya a rapidement gagné en popularité au Québec et au Canada au cours des dernières années (Statistique Canada, 2015). Par contre, deux ravageurs importants du soya sont maintenant présents sur le territoire québécois. Le puceron du soya (PS), *Aphis glycines* Matusmura, a été observé pour la première fois en 2001 dans les champs de soya du sud du Québec, puis s'est rapidement répandu dans toutes les régions productrices de soya (Roy 2003). Peu après son arrivée, les producteurs ont dû faire face à de fortes infestations dans leur champ, causant des pertes de rendement et entraînant l'utilisation d'insecticides pour contrôler le PS. Les efforts de recherche ont rendu possible l'élaboration d'une approche de lutte intégrée pour aider les producteurs à prendre une décision éclairée lorsque les populations de PS atteignent le seuil d'alerte. Cette approche a permis de diminuer l'utilisation des insecticides et de préserver les populations d'ennemis naturels. Ce groupe d'organismes composés de prédateurs, de parasitoïdes et de champignons entomopathogènes permet de stabiliser les populations du PS sous les seuils économiques d'intervention (Rhainds *et al.* 2007). Dans les conditions actuelles, les pertes économiques engendrées par le PS au Québec sont atténuées par la gestion rigoureuse de ce ravageur.

Cet équilibre pourrait être perturbé par l'arrivée du nématode à kyste du soya (NKS), *Heterodera glycines* Ichinohe. Cet endoparasite sédentaire des racines a été observé pour la première fois au Québec en 2013 (Mimee *et al.* 2014). Suite à cette découverte, une enquête panquébécoise a démontré que le NKS était présent dans plusieurs régions productrices de soya, mais à de faibles niveaux, donc, sous le seuil de dommages économiques (Mimee *et al.* 2016). Puisqu'il ne pourra pas être éradiqué – étant donné sa grande persistance dans les sols en l'absence de plante hôte –, le NKS deviendra un ravageur de plus en plus important au Québec au cours des dix à quinze prochaines années (Mimee *et al.* 2016). L'augmentation anticipée des populations de NKS dans les champs du Québec a le potentiel de modifier la gestion du puceron du soya et d'autres ravageurs de la partie aérienne de la plante. Cette interaction peut prendre la forme d'une compétition directe pour les ressources alimentaires que fournit la plante ou, plus probablement, indirectement, via la réponse défensive de la plante face aux

agresseurs. Comme les plantes possèdent plusieurs mécanismes de défense non spécifiques, il est fort probable que la présence de nématodes puisse modifier la composition de la sève et du contenu cellulaire de la partie aérienne de la plante et ainsi favoriser ou nuire à certains ravageurs foliaires.

Le présent projet s'intéresse à l'interaction entre le NKS et le PS. Dans un premier temps, nous avons testé les effets potentiels d'une infestation par le NKS, de l'utilisation de cultivars résistants et de l'augmentation de la concentration ambiante de CO₂ sur les traits d'histoire de vie du PS (survie et fécondité). Finalement, nous avons comparé la réaction de défense systémique d'un cultivar sensible et d'un résistant au NKS suite à une infestation par le NKS.

Chapitre 1 : Revue de littérature

1.1 La plante hôte : Le soya

1.1.1 État de la culture en Amérique du Nord

Le soya, *Glycine max* (L.) Merr (Fabaceae), une plante originaire de l'Asie de l'Est, se cultive aujourd'hui dans plus de 90 pays. En 2016, les États-Unis ont produit plus de 114 millions de tonnes métriques de soya (USDA 2017). Au Canada, cette culture est la 4^e en importance derrière le blé, le canola et le maïs-grain avec une production de près de 7 millions de tonnes métriques en 2017 (Statistiques Canada 2017). Depuis 2013, les revenus associés à la culture de soya surpassent ceux de la culture du maïs (Schnitkey 2016). Comme toutes les légumineuses, le soya a la capacité de fixer l'azote atmosphérique, diminuant ainsi le besoin en engrais chimiques onéreux et néfastes pour l'environnement. De plus, le grain de soya contient une forte teneur en huile et en protéine, ce qui en fait un complément intéressant pour les éleveurs de bétail. Il s'avère aussi très rentable d'inclure le soya dans une rotation de culture. Le prix du soya est 2,6 fois plus élevé que celui du maïs pour le même poids (Producteurs de Grains du Québec 2018). Tous ces facteurs font du soya une culture qui gagne rapidement en popularité au Canada si bien que les superficies cultivées augmentent d'année en année (Figure 1.1). En plus de l'engouement des producteurs pour cette culture, l'expansion territoriale du soya est également soutenue par le développement de nouvelles variétés plus hâtives qui tolèrent une photopériode plus longue et des températures plus fraîches pendant la saison de croissance (Voldeng *et al.* 1997, Morrison *et al.* 1999). Cela permet de cultiver cette légumineuse dans des régions auparavant non propices à cette culture. Avec l'avènement des changements climatiques, de nouvelles zones de productions plus nordiques deviendront alors convenables pour la culture du soya. De plus, l'augmentation de la température et de la concentration atmosphérique en CO₂ permettra l'utilisation de variétés plus tardives qui offrent un rendement substantiellement plus élevé que les variétés actuellement utilisées dans les régions productrices (Debailleul *et al.* 2013).

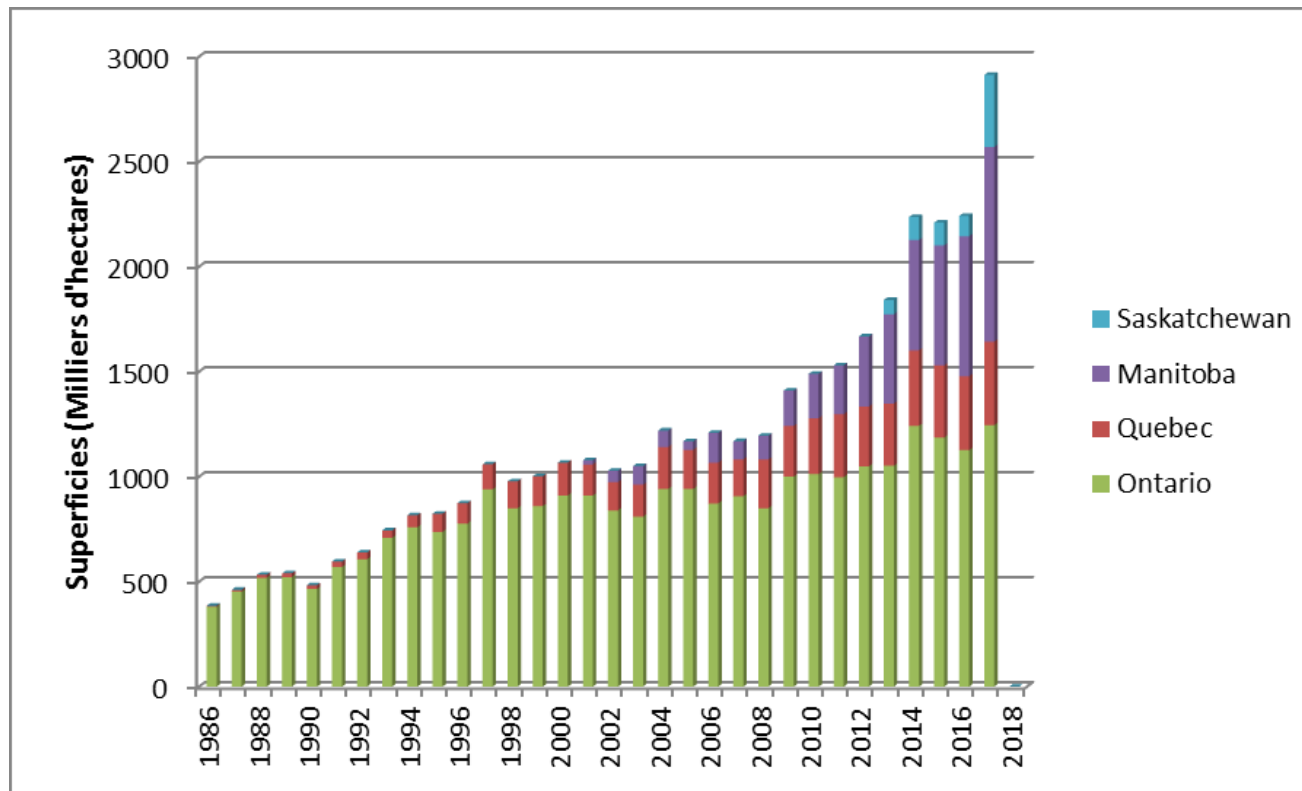


Figure 1.1 : Évolution temporelle des superficies cultivées en soya dans les différentes provinces productrices du Canada (Statistiques Canada 2017).

1.1.2 Phénologie du soya

Un système de codification simplifié des stades de la plante est utilisé lorsqu'il est question de la phénologie du soya (Figure 1.2) (Tableau 1.1) (Fehr *et al.* 1971, McWilliams *et al.* 2009). Les ravageurs peuvent avoir un impact variable sur le rendement en fonction du stade phénologique de la plante au moment de l'infestation et de l'atteinte du pic de population.

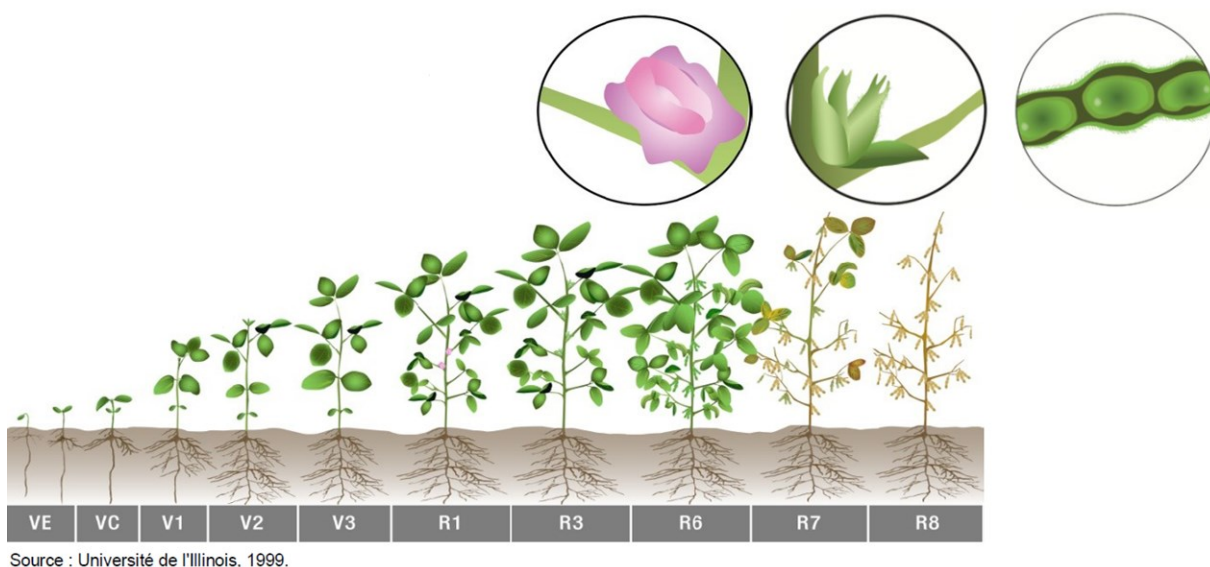


Figure 1.2 : Les stades phénologiques du soya. Tiré de McWilliams *et al.* (2009)

Tableau 1.1 : Caractéristiques et correspondances BBCH telles que décrites par Zadoks *et al.* (1974) des stades phénologiques du soya (Fehr *et al.* 1971, Munger *et al.* 1997).

Stade	Nom usuel du stade	Caractéristiques du stade	Stades BBCH
VE	Émergence	De la germination jusqu'à l'émergence des cotylédons	00 0.. 009
VC	Cotylédon	Déploiement des cotylédons et des premières feuilles unifoliées	100, 101
V1	Première feuille trifoliée	La première feuille trifoliée est complètement déroulée	102
V2..Vn	Deuxième.. énième feuille	Idem à V1, le nombre correspond au nombre de feuilles trifoliées déroulées sur la tige principale	103.. 10(n-1)
R1	Début de la floraison	Première fleur ouverte sur n'importe quel nœud	600
R2	Pleine floraison	Fleurs présentes sur les deux nœuds supérieurs	605
R3	Début de la formation des gousses	Une gousse sur les quatre nœuds supérieurs mesure au moins 0,5 cm	609
R4	Élongation des gousses	Une gousse sur les quatre nœuds supérieurs mesure au moins 1,9 cm	700
R5	Début du remplissage des gousses	Un grain dans les quatre nœuds supérieurs mesure au moins 0,3 cm de diamètre	703
R6	Grossissement des grains	Un grain vert remplit totalement la gousse sur un des quatre nœuds supérieurs	709
R7	Début de la maturation	Les gousses et les feuilles commencent à jaunir. Les feuilles commencent à tomber des plus vieilles aux plus jeunes	80
R8	Grains matures, Récolte	Le plant est totalement défolié. 95 % des gousses sont jaune-brune	89

Chez le soya, les stades critiques pour assurer un bon rendement sont les stades R2 à R5, soit de la floraison jusqu'à l'atteinte de la taille maximale des grains (Catangui *et al.* 2009). Une abondance élevée de ravageurs lors de la floraison et de la formation des gousses se traduira par une perte de rendement sous forme d'une diminution du nombre de gousses et de grains par gousse. Lorsque la plante atteint le stade R6, la pression de ravageur n'engendre plus de perte de rendement (Ostlie 2001).

Dans certaines régions de l'Amérique du Nord, l'aire de répartition des deux ravageurs d'importance du soya; le puceron du soya (PS), *Aphis glycines* Matsumura (Hemiptera : Aphididae), et le nématode à kyste du soya (NKS), *Heterodera glycines* Ichinohe (Tylenchida: Heteroderidae), se chevauchent. L'étude de l'interaction entre ces deux espèces apparaît nécessaire afin de prévenir des dommages encore plus grands que ceux actuellement observés.

1.2 Le parasite racinaire : Le nématode à kyste du soya

1.2.1 Répartition géographique en Amérique du Nord et écologie

Le NKS a été introduit en Caroline du Nord, aux États-Unis, en 1954 (Winstead *et al.* 1955). Rapidement, il s'est dispersé et fut détecté au Canada pour la première fois en 1987 (Anderson *et al.* 1988) en Ontario et, plus récemment, au Québec en 2013 (Mimee *et al.* 2014). En 2017, le NKS était présent dans presque tout le Midwest américain ainsi que dans deux provinces canadiennes (Figure 1.3). Puisque la présence du NKS est souvent asymptomatique, il est fort probable qu'il ait été présent bien avant sa détection et que l'aire de répartition réelle soit plus étendue que celle illustrée sur la Figure 1.3.

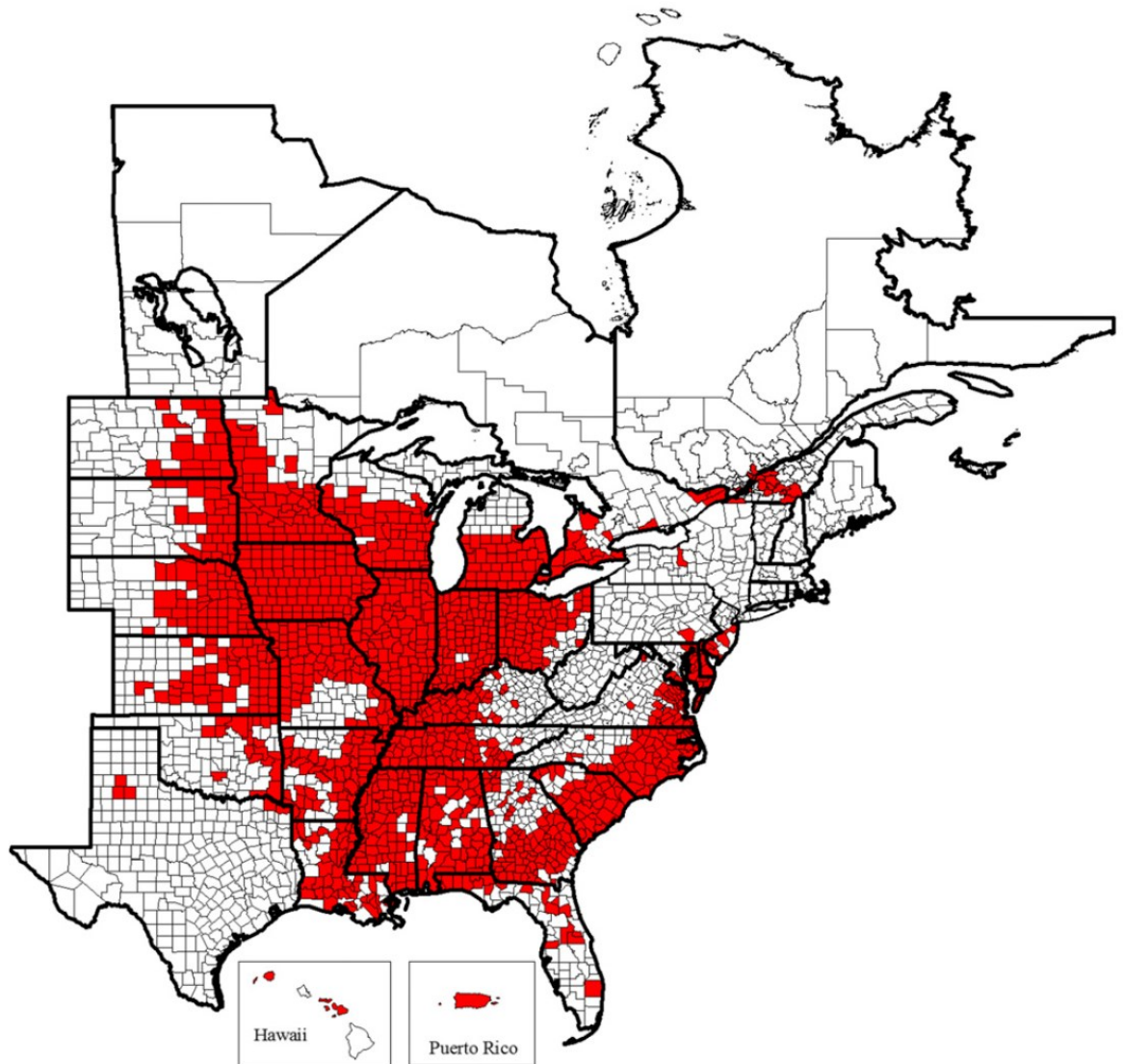


Figure 1.3 : Répartition du nématode à kyste du soja aux États-Unis et au Canada en 2017. Les régions infestées sont représentées en rouge. Tiré de Tylka et Marett (2017)

Le cycle saisonnier du NKS débute au printemps lorsque les larves infectieuses (stade J2) sortent de l'œuf (Figure 1.4). Cette éclosion est synchronisée, c'est-à-dire que toutes les larves émergent de l'œuf au même moment. Elle peut être influencée par la température, la période de l'année ou la présence de plantes hôtes (Niblack 2005). Les larves localisent un hôte à l'aide de gradients chimiques produits par les racines lors du processus de rhizodéposition. En effet, les plantes libèrent des composés carbonés

(sucres, acides organiques, mucilages et autres molécules) dans le sol via les racines (Nguyen 2003). Ce processus a pour but premier de former une rhizosphère composée de bactéries et autres organismes qui libéreront de l'azote sous forme assimilable par la plante, à proximité des racines. Toutefois, la plante n'attire pas que des organismes bénéfiques à sa croissance. Une fois la rhizosphère atteinte, les larves du NKS pénètrent dans une radicelle à l'aide de leur stylet, et de sécrétions de cellulases, de protéases et d'autres enzymes pour atteindre les tissus vasculaires (Davis *et al.* 2004). Lorsque les larves J2 atteignent une cellule convenable pour établir un site d'alimentation, elles sécrètent plusieurs composés par leurs glandes œsophagiennes qui induisent un changement dans la morphologie de la cellule attaquée (Bohlmann et Sobczak 2014). Cette cellule, ainsi que celles en périphérie, forment le site d'alimentation, appelé syncytium. Cette structure devient alors un puit énergétique que le nématode maintient tout le long de son développement dans la racine, où se produisent les deuxièmes (J2→J3) et troisièmes (J3→J4) mues des stades juvéniles. La mue finale (J4→ Adulte) se produit 8 à 10 jours après l'infestation en fonction du sexe. Les mâles quittent alors la racine en quête de femelles matures. Ces dernières demeurent dans la racine et leur corps commence à enfler. Le gonflement est tel que la moitié postérieure du corps de la femelle sort à l'extérieur de la racine. Elle est alors prête à être fécondée.

Les femelles produisent en moyenne 200 œufs, dont la majorité est pondue dans une matrice gélatineuse hors du corps de la femelle (Niblack 2005). Ceux-ci continuent leur développement et, si les conditions le permettent, atteignent le stade infectieux au cours d'une même saison de croissance. Il y a donc plusieurs générations de NKS par an puisque le cycle de vie complet ne dure que 21 à 22 jours dans des conditions optimales (Niblack 2005). L'enveloppe corporelle de la femelle devient le kyste protecteur, ce qui permet aux œufs protégés de survivre jusqu'à 10 ans dans le sol (Inagaki et Tsutsumi 1971).

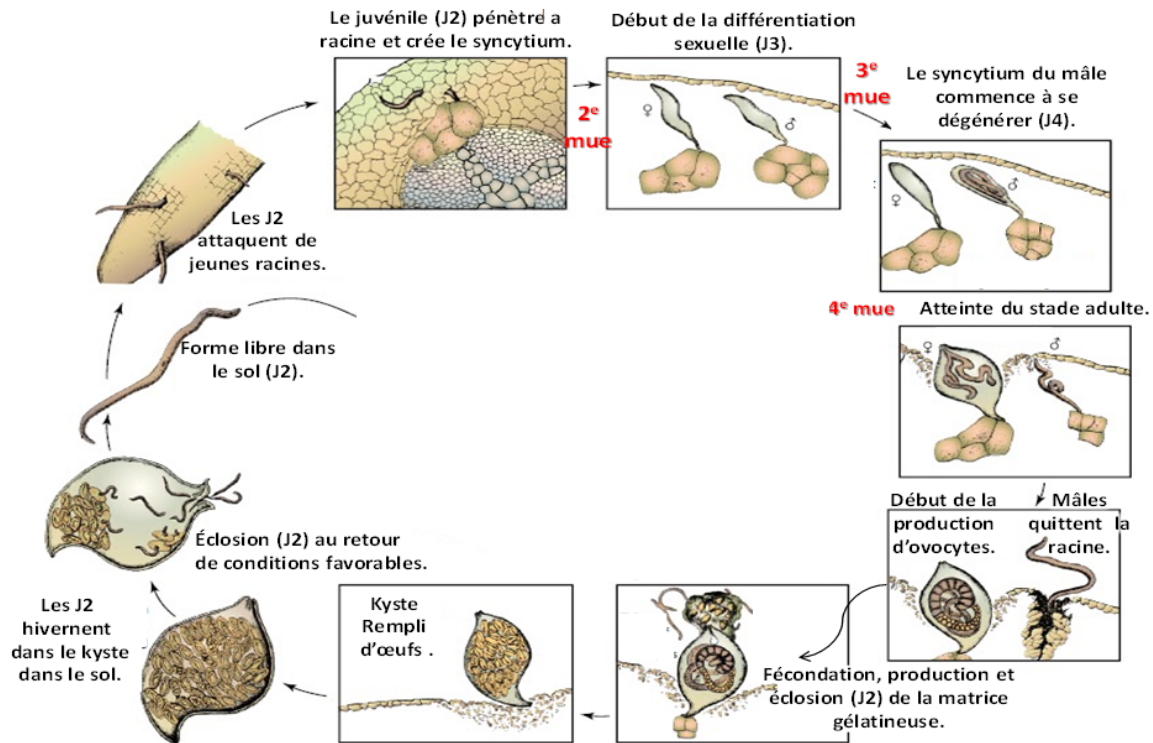


Figure 1.4: Cycle de vie du nématode à kyste du soya. Adapté par Gendron St-Marseille 2013, dessiné par Agrios (2005)

1.2.2 Impacts sur la plante hôte

Lorsque les larves infectieuses (J2) pénètrent la racine en quête d'un site propice à l'établissement de leur syncytium, elles causent la mort des cellules qu'elles rencontrent. Puisqu'il est rare qu'un seul individu attaque un plant, plusieurs lésions sont ainsi créées sur les racines d'une même plante. Suite à la formation du syncytium, les cellules impliquées deviennent des « puits énergétiques » et drainent ainsi les ressources de la plante au profit du parasite (Sobczak 2011). Pendant le processus infectieux, le nématode réussit à déjouer le système immunitaire de la plante hôte en libérant plusieurs molécules appelées effecteurs. On appelle effecteur toutes les protéines et petites molécules provenant d'un pathogène qui modifient la structure ou le fonctionnement des cellules de l'hôte (Hogenhout *et al.* 2009). Tous ces composés ont pour but d'activer ou d'inhiber certaines voies métaboliques de l'hôte afin de modifier le métabolisme et les défenses de

la plante pour la création du syncytium (Hewezi et Baum 2013). Génétiquement, on peut parler de phénotype étendu, car ce sont des gènes provenant d'un parasite qui ont une expression phénotypique chez l'hôte ou son comportement (Dawkins 2016). En sécrétant ces molécules, les nématodes endoparasites sédentaires, comme le NKS, arrivent à éviter leur détection par le système immunitaire de la plante et à interférer avec l'allocation des ressources aux différents tissus végétaux.

Le NKS se nourrit du cytoplasme des cellules du syncytium et redirige ensuite la sève et les nutriments pour s'en alimenter pendant plusieurs semaines, ce qui crée un stress nutritionnel important à la plante. Cependant, les symptômes visibles de la présence du NKS comme la maturité hâtive, l'arrêt de la croissance ou le jaunissement des feuilles sont rares, même lors de fortes densités de parasites sur les racines. Des pertes de rendement substantielles peuvent être observées dans des champs asymptomatiques (Noel et Edwards 1996, Young 1996, Wang *et al.* 2003). Le NKS s'avère le ravageur du soya qui cause, mondialement, le plus de dommages annuellement. Aux États-Unis seulement, il cause entre 1 et 3 G\$ US en pertes économiques chaque année (Wrather et Koenning 2009).

1.2.3 Moyens de lutte contre le nématode à kyste du soya

Le seul moyen de lutte efficace et économique disponible contre le NKS est l'utilisation de cultivars résistants et de cultures non-hôtes dans le cadre d'une régie de rotations des cultures sur plusieurs années. Il existe plusieurs exemples dans différentes cultures où le développement de cultivars possédant des gènes de résistance a permis le contrôle spécifique de certaines espèces ou pathotypes de nématodes. Par exemple, le nématode doré (*Globodera rostochiensis*) compte cinq phénotypes de virulence différents donc cinq pathotypes différents (Ro1 à Ro5) (Sturhan 1985). Le gène de résistance H1 chez la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) confère une résistance à deux pathotypes du nématode doré (Ro1 et Ro4) (Roberts 1982). Ce type de résistance est appelé « gène pour gène » (Janssen *et al.* 1991), signifiant que la plante portant le gène H1 reconnaît un des effecteurs du nématode doré et élimine ce dernier des racines via une réaction hypersensible. Il s'agit en fait d'une réaction très localisée qui entraîne la mort des

cellules avoisinant le site de nutrition du nématode (Heath 2000). Dans le cas des nématodes à kystes, on la qualifie de réaction hypersensible retardée puisqu'elle s'amorce seulement lorsque le site de nutrition est bien établi contrairement aux nématodes à galles qui eux sont détectés au début de l'initiation du site de nutrition (Sobczak *et al.* 2005). Cependant, l'essentiel de la réaction demeure la même *i.e.* des dérivés réactifs de l'oxygène sont produits très rapidement et en grande quantité, suivi par l'augmentation du taux de phytoalexines dans les tissus parasités (Apostol *et al.* 1989) causant ainsi la mort des cellules et l'initiation de la réaction de défense systémique de la plante.

La résistance au NKS n'est pas aussi simple même si la réaction hypersensible a tout de même lieu chez le plant résistant. En effet, elle nécessite l'action simultanée de plusieurs gènes qui diffèrent en fonction des populations de nématodes (Rao-Arelli *et al.* 1992). Présentement, sept lignées de soya présentant des profils de résistance différents au NKS sont utilisées pour déterminer les pathotypes des populations du NKS (Niblack *et al.* 2002) (Tableau 1.2). Les tests de pathotypage consistent à inoculer une population de NKS sur chacune des sept lignées résistantes ainsi que sur un cultivar sensible. Six semaines après l'inoculation, les kystes sont récoltés et dénombrés sur chacun des plants de soya. Par la suite, on calcule le *Female index* (FI) (Équation 1.1) qui est un indice de la sensibilité d'un cultivar à une population de nématodes. Si le FI est supérieur à 10 %, on considère que la lignée est sensible à cette population de nématodes. Ainsi, une population de nématodes ayant un FI supérieur à 10 % sur les lignées 2, 5 et 7 est identifiée comme un HG type 2.5.7. Toutes les combinaisons sont alors possibles. Lorsqu'une population ne se reproduit pas ou très peu (<10% du témoin) sur l'ensemble des lignées indicatrices, on la nomme HG 0.

Tableau 1.2 : Lignées de soya indicatrices utilisées pour déterminer le HG type d'une population du nématode à kyste du soya.

Numéro de la lignée indicatrice pour l'HG type	Numéro d'introduction des lignées de soya
1	PI 548402 (Peking)
2	PI 88788
3	PI 90763
4	PI 437654
5	PI 209332
6	PI 89772
7	PI 548316 (Cloud)

$$FI = \frac{\text{Nombre moyen de femelles et de kystes issus de la variété à caractériser}}{\text{Nombre moyen de femelles et de kystes issus de la variété sensible}} \times 100$$

Équation 1.1: Formule mathématique pour calculer le Female Index (FI). Tiré de Riggs et Schmitt (1988)

Actuellement, plus de 99% des cultivars résistants disponibles commercialement sont issus de seulement deux lignées parentales : 93% possèdent une résistance de type PI88788 et 7% possèdent une résistance de type Peking (Concibido *et al.* 2004).

Certaines variétés de soya possèdent des gènes de résistance en commun, mais ayant une composition allélique différente. C'est le cas de PI88788 et PI437654 qui possèdent le gène *rgl1*, mais divers allèles, ce qui leur confère un niveau de résistance différent (Brucker *et al.* 2005). Le locus *rgl1* est un locus à effets quantitatifs (en anglais *quantitative trait locus* ou QTL), soit un locus où la variation allélique est associée à la variation d'un caractère quantitatif. Le niveau de résistance au NKS pour une lignée dépend donc de la nature des allèles présents à ce locus et de la représentation de ces allèles dans le génome. Le niveau de résistance dépend aussi du nombre de gènes de résistance différents contenus dans le génome de la plante. Par exemple, le plant de soya

de type PI88788 exprime plusieurs gènes de résistance soit *rgh1*, *rgh2*, *Rhg4* et *Rhg5* (Klink *et al.* 2010). Peking, quant à lui, exprime les gènes *rhg1*, *rhg2*, *rhg3* et *Rhg4* (Klink *et al.* 2009b). La durabilité de la résistance est corrélée avec le nombre de gènes de résistance différents d'une plante. Dans une population de nématodes, il y a une certaine variabilité génétique au niveau de la capacité à infecter efficacement un hôte. Supposons que 99 % des nématodes d'une population soient avirulents et incapables de se reproduire sur un cultivar résistant, il y aura tout de même 1 % de cette population qui parviendra à se multiplier. Au fil des générations, cette proportion augmentera en raison de la pression de sélection des gènes de résistance présents dans la plante. La présence de plusieurs gènes de résistance rend cette adaptation plus difficile et augmente la durabilité du cultivar (Castagnone-Sereno 2002).

Même si les cultivars de soya résistants de type PI88788 partagent plusieurs gènes de résistance avec le type Peking, leurs réactions de défenses locales contre le NKS sont différentes (Figure 1.5). En effet, lors de la réaction du type Peking, la paroi cellulaire épaisse dès quatre jours après l'inoculation des nématodes (Klink *et al.* 2011). C'est à ce moment que la plante amorce des réactions d'oxydation pour tuer les cellules entourant le site nourricier. À partir du cinquième jour, le syncytium cesse de se développer (Kim et Riggs 1992) et la structure est isolée des cellules saines par un tissu nécrotique (Kim *et al.* 1987). Dès lors, le nématode, toujours au stade infectieux (J2), cesse de se développer (Endo 1964, 1965, Riggs *et al.* 1973, Kim *et al.* 1987, Halbrecht *et al.* 1992, Kim et Riggs 1992). L'arrêt du développement se produit autant chez les individus mâles que femelles (Colgrove et Niblack 2005). Par la suite, les nématodes dégènèrent dans la racine (Endo 1964, 1965, Kim *et al.* 1987, Kim et Riggs 1992). Cette réaction de défense s'avère très efficace puisqu'elle survient quelques jours après la pénétration de la racine par le nématode (Endo 1965, Riggs *et al.* 1973, Kim *et al.* 1987). Quant à la réaction de type PI88788, l'arrêt du développement du nématode ne se produit que six jours suivant la pénétration de la racine. Les nématodes atteignent donc le stade J3 et parfois même J4, ce qui démontre que le fonctionnement du syncytium n'est pas affecté aussi tôt dans la réaction de résistance de type PI88788 que dans celle de type Peking (Klink *et al.* 2010).

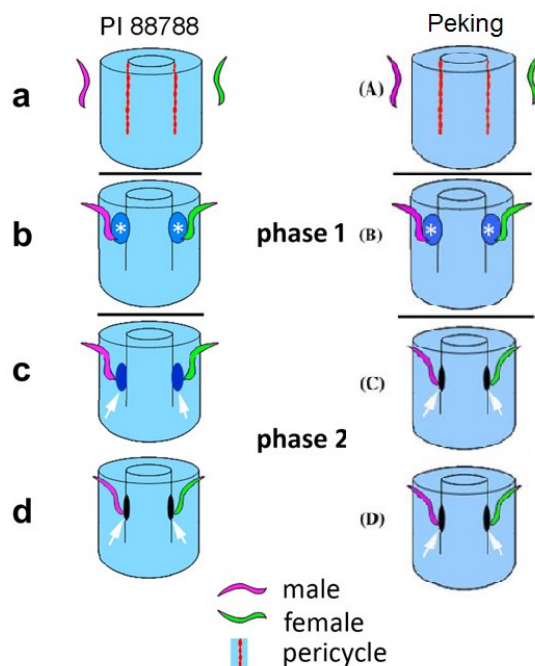


Figure 1.5: Infestation de la racine de deux cultivars résistants (PI88788 et Peking) par le nématode à kyste du soja au cours du temps. **a)** Avant l’infestation. **b)** 3 jours post-inoculation, phase de parasitisme (les astérisques montrent le syncytium en développement) **c)** 6 jours post-inoculation, phase de résistance (les flèches montrent le syncytium en dégénérescence **d)** 9 jours post-inoculation (les flèches montrent le syncytium en dégénérescence). Tiré de Klink *et al.* (2009b) et Klink *et al.* (2010)

1.2.4 État de la situation du nématode à kyste du soja au Québec

Le NKS a été détecté pour la première fois au Québec dans la région administrative de la Montérégie en 2013 (Mimee *et al.* 2014). Suite à cette découverte, une enquête panquébécoise a été mise sur pied pour évaluer la répartition du NKS dans les différentes régions productrices de soja entre 2013 et 2015. Les densités de population de NKS retrouvées dans le sol demeurent encore très faibles, soit en moyenne 4,72 kystes par 1000 cm³ de sol (Mimee *et al.* 2016). Les taux de viabilité des kystes retrouvés dans les champs échantillonnés étaient plus élevés dans les régions de l’Estrie et du Centre-du-Québec (Figure 1.6), bien que ceux-ci soient relativement faibles à travers la province. Seuls 15 % des échantillons testés positifs contenaient des kystes remplis d’œufs viables, preuve d’une reproduction récente (Mimee *et al.* 2016).

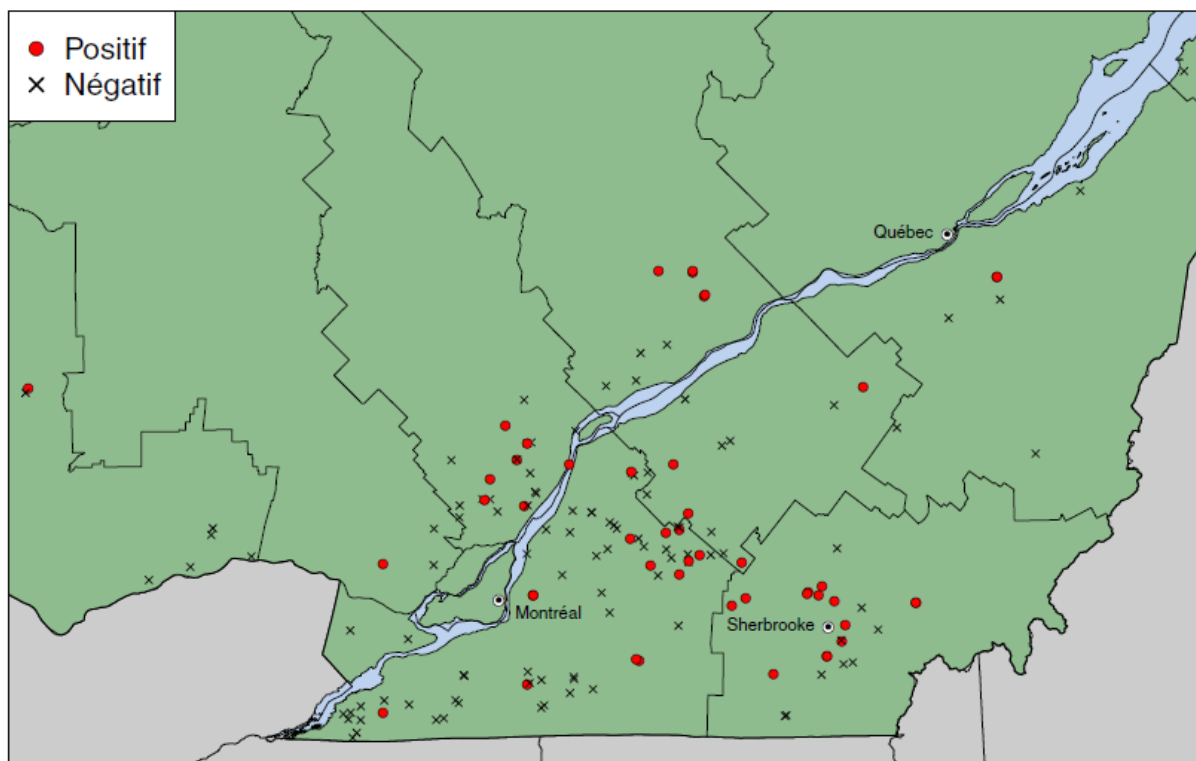


Figure 1.6 : Distribution des champs de soya échantillonnés de 2013 à 2015 et sites où la présence du NKS a été confirmée. Tiré de Mimee *et al.* (2016)

Les résultats de l'enquête démontrent clairement que le NKS n'est pas, du moins pour le moment, un ravageur important, mais demeure néanmoins une menace pour la production de soya au Québec. La viabilité des œufs laisse croire que la reproduction en sol québécois est faible dans les conditions actuelles. Cependant, comme le NKS ne pourra être éradiqué de notre territoire, nous devons nous préparer à une augmentation des populations lorsque les conditions climatiques deviendront plus favorables au cours des prochaines années. Les populations que l'on retrouve actuellement au Québec vont s'adapter aux conditions québécoises. Puisque l'introduction au Québec est récente, il est normal d'observer un temps de latence avant une augmentation significative des populations (Crooks *et al.* 1999). De plus, les changements climatiques devraient favoriser le développement et la dispersion du NKS au Québec. En 2100, il est prévu que le NKS puisse compléter six cycles de vie complets lors d'une saison de croissance dans les régions les plus chaudes du Québec (Gendron-St-Marseille 2015).

1.3 Le parasite foliaire : Le puceron du soja

1.3.1 Distribution géographique en Amérique du Nord et écologie

Le puceron du soja (PS) a été détecté pour la première fois en Amérique en 2000 dans un champ de soja au sud de l'état du Wisconsin aux États-Unis (Alleman 2002). Depuis, il s'est rapidement dispersé, si bien qu'en 2009, on le retrouvait dans 30 états américains et trois provinces canadiennes (Ragsdale *et al.* 2011).

Le PS est un petit arthropode diécique, multivoltin et holocyclique. Le cycle de vie (Figure 1.7) débute lors de l'éclosion des pucerons au printemps sur l'hôte primaire : le nerprun cathartique (*Rhamnus cathartica* L.) ou le nerprun à feuille alterne (*Rhamnus alnifolia* L'Hér.) (Voegtlin *et al.* 2005). Les juvéniles atteignent la maturité sexuelle environ une semaine après l'éclosion et commencent à se reproduire par parthénogenèse. La première et deuxième génération (F1-F2) est composée de femelles aptères. Les générations subséquentes sur l'hôte primaire produisent majoritairement des femelles ailées. À la fin du printemps, ce sont ces individus qui quittent le nerprun à la recherche de leur hôte secondaire : le soja. Les femelles empruntent alors des courants-jets de faible altitude (Ragsdale *et al.* 2011) et peuvent parcourir jusqu'à 7 km par jour (Zhang *et al.* 2008). Sur l'hôte secondaire, les femelles se reproduisent uniquement par parthénogenèse. En Chine, jusqu'à 15 générations sont produites par année sur le soja (Wang *et al.* 1962). Les populations peuvent augmenter de façon exponentielle lorsque les conditions de croissance sont favorables (McCornack *et al.* 2004). Quand la population de pucerons devient trop élevée, des femelles ailées sont produites en plus grande quantité et quittent la colonie à la recherche d'un site propice à leur reproduction.

À la fin de l'été, la diminution de la photopériode engendre la production de gynopares (femelles ailées qui donnent naissance aux femelles ovipares) et de mâles ailés. Ces derniers quittent la colonie à la recherche de nerprun où les femelles ovipares se reproduisent avec les mâles et déposent leurs œufs sur les rameaux du nerprun pour l'hivernage.

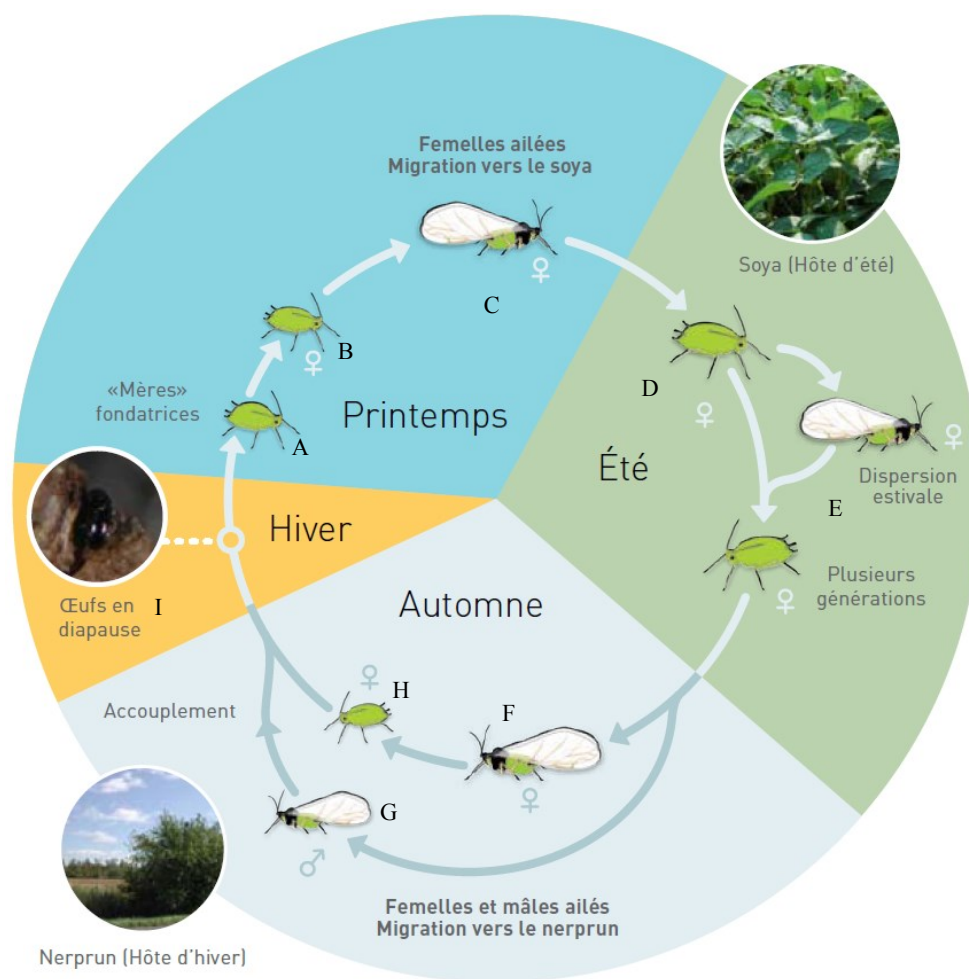


Figure 1.7 : Cycle de vie du puceron du soja. (A) Femelle fondatrice sur nerprun. (B) Femelle vivipare et aptère sur nerprun. (C) Femelle vivipare et ailée migrant du nerprun au soja à la fin du printemps. (D) Femelle vivipare et aptère sur soja. (E) Femelle ailée et migratrice estivale. (F) Gynopare, femelle migrante du soja au nerprun. (G) Mâle migrant du soja au nerprun. (H) Femelle ovipare sur nerprun. (I) Œuf hivernant sur le nerprun. Tiré de Jean *et al.* (2010).

1.3.2 Impacts sur la plante hôte

Le PS, comme tous les hémiptères, possède un proboscis qui lui permet de transpercer la cuticule des feuilles et des pétioles (Dixon 1998, Tilmon *et al.* 2011) afin d'en sucer la sève élaborée (Pollard 1973). Les pucerons s'alimentent via le phloème des sucres et de l'azote sous forme d'acides aminés (Dixon 1998). Au Canada, les PS arrivent

dans les champs alors que les plants de soya débutent la floraison soit en juillet (Ragsdale *et al.* 2011). De façon générale, les pucerons ailés établissent leurs colonies sur de jeunes feuilles près des méristèmes (Ragsdale *et al.* 2004). Suite à la croissance de la plante, les pucerons se répartissent sur les autres parties de la plante dont les pousses latérales, le dessous des feuilles ainsi que sur les jeunes gousses (Ragsdale *et al.* 2004).

Puisque les pucerons se multiplient très rapidement (McCornack *et al.* 2004), ils deviennent rapidement une source de stress pour la plante. À fortes densités, le PS peut limiter la photosynthèse et les échanges gazeux de la plante (Macedo *et al.* 2003, Ragsdale *et al.* 2007). Chaque fois qu'un puceron insère son stylet dans la plante pour se nourrir, il cause des dommages aux cellules qu'il transperce. Cela peut engendrer de la nécrose ou l'enroulement des feuilles via la transmission de virus (Kassanis 1952, Hill *et al.* 2001). En effet, le PS est un vecteur de plusieurs virus s'attaquant au soya tel que le virus de la mosaïque du soya (SMV) dans plusieurs pays (Clark et Perry 2002, Davis et Radcliffe 2008). Cependant, la prévalence des virus associés au soya est faible au Québec (Rioux *et al.* 2008). Les pucerons excrètent aussi une substance collante et sucrée appelée miellat. Cette matière s'avère un substrat idéal pour diverses espèces de champignons qui engendrent la fumagine, ce qui peut limiter la photosynthèse (He *et al.* 1991). Tous ces facteurs réunis font du PS un des phytoparasites les plus dommageables de la culture du soya (Ragsdale *et al.* 2007). Si aucune mesure n'est prise pour contrôler les populations de PS, des pertes de rendement sont possibles. Les fortes densités de PS durant les stades phénologiques critiques de la plante (R1-R5) ainsi que l'absence d'interventions humaines, peuvent engendrer une perte économique annuelle mondiale de plus de 2,4 G\$ US (Song *et al.* 2006).

1.3.3 Moyens de lutte contre le puceron du soya

Les moyens de lutte couramment utilisés contre le PS sont majoritairement chimiques. En effet, des insecticides sont souvent appliqués, soit sous forme de traitement de semence en prévention, ou de pulvérisations foliaires, en réaction à de fortes infestations. Les traitements foliaires s'avèrent efficaces dans la mesure où l'application est réalisée avant l'atteinte du seuil de dommage économique fixé à 675

pucerons/plant (Ragsdale *et al.* 2007). Les traitements de semences, bien que largement utilisés, ne constituent pas une approche efficace contre le PS. En effet, les concentrations d'insecticides dans les tissus de la plante diminuent au fil du temps jusqu'à ne plus être efficace lors des stades phénologiques critiques du soya (McCornack et Ragsdale 2006, Seagraves et Lundgren 2012, Krupke *et al.* 2017). Les stades R2 à R5 sont décisifs pour générer un bon rendement (Ragsdale *et al.* 2007) et il est souhaitable que la population de PS n'atteigne pas le seuil économique d'intervention avant que les gousses ne soient pleinement remplies (R6) (Ragsdale *et al.* 2007).

Les efforts de recherche en Amérique du Nord ont permis de mettre en place une stratégie de lutte intégrée qui minimise l'utilisation d'insecticides et qui, grâce aux ennemis naturels du PS, permet de maintenir les populations de PS sous le seuil d'alerte fixé à 250 pucerons par plants (Ragsdale *et al.* 2007). La stratégie québécoise proposée aux producteurs de soya nécessite un dépistage hebdomadaire de 30 plants par champ. Lorsque le seuil d'alerte est atteint et que la plante est dans la période critique pour le rendement, le producteur possède en moyenne une semaine pour effectuer une intervention phytosanitaire contre le PS avant l'atteinte du seuil économique d'intervention. Passé le stade R6, le traitement n'aura pas d'impact sur le rendement et il n'est donc pas nécessaire d'intervenir (Breault *et al.* 2009). Au Canada, 18 formulations sont homologuées en traitements foliaires contre le PS (SAGÉ Pesticides 2018).

1.3.4 État de la situation du puceron du soya au Québec

La première mention du PS au Québec remonte à 2001 (Brodeur *et al.* 2003, Brodeur et Roy 2007). Les populations de PS ont parfois atteint des densités de population très élevées durant les premières années suivant son établissement au Québec (Figure 1.8). Entre 2004 et 2007, le nombre de pucerons par plant a atteint le seuil de dommages économiques dans 22 % des champs et 56 % des champs ont atteint le seuil d'alerte (Breault *et al.* 2009). Les années suivantes, le nombre de PS par plant s'est stabilisé, et ce, probablement grâce au contrôle des populations exercé par les ennemis naturels locaux. Un cycle de bisannuel a été observé entre 2005 à 2011 avec de fortes infestations les années impaires et des plus faibles lors des années paires (Maisonhaute *et*

al. 2016). Les prédateurs de pucerons indigènes du Québec ont vite intégré le PS dans leur régime alimentaire (Mignault *et al.* 2006, Rhainds *et al.* 2007). Deux espèces de parasitoïdes, *Aphelinus certus* et *Aphidius ervi*, ont aussi fait leur entrée dans la province (Gariépy 2011). Le champignon entomopathogène *Pandora neoaphidis* présent dans les champs de soya en fin de saison s'avère aussi être un auxiliaire efficace pour le contrôle des populations (Gagnon *et al.* 2015). Les actions combinées de ces espèces réussissent relativement bien à contrôler les populations de PS et à les maintenir sous le seuil de dommage économique (Brodeur 2013).

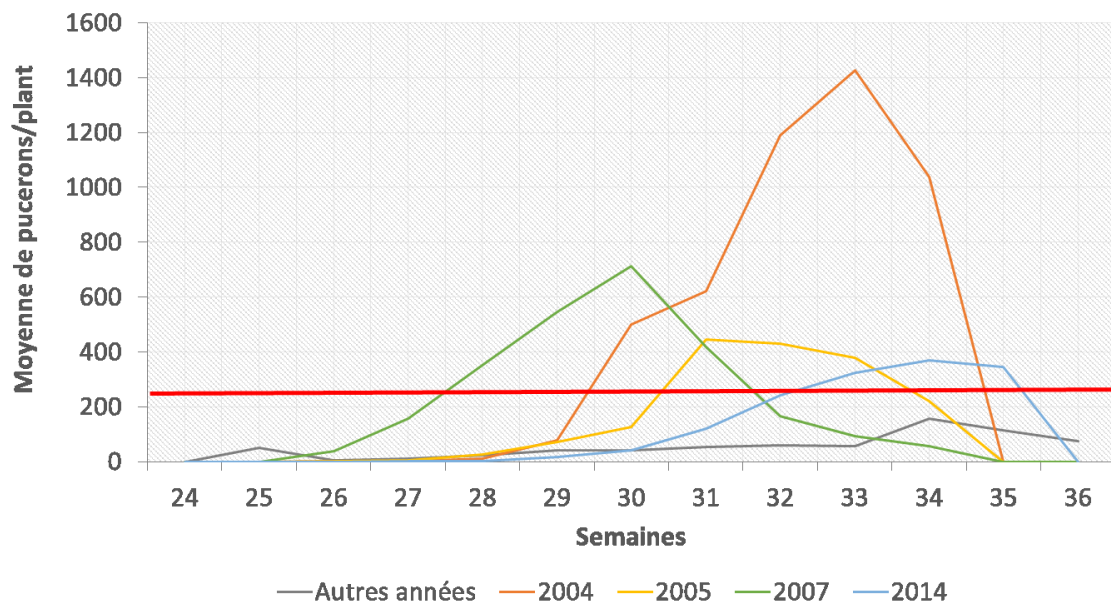


Figure 1.8 : Distribution saisonnière du nombre moyen de PS par plant Source : RAP Grandes Cultures, MAPAQ

De plus, le PS s'installe généralement au Québec lorsque le soya entre en floraison (stade R1), soit entre la fin juin et la mi-juillet. Ces populations sont issues de migrations annuelles provenant des États-Unis et de certains individus qui ont hiverné sur le nerprun à proximité des champs de soya. Cette arrivée tardive limite les risques de pertes de rendement puisque les populations sont encore faibles lors des stades critiques de la plante.

1.4 Interactions entre les parasites foliaires et racinaires

1.4.1 Généralités

Parmi les consommateurs primaires, les insectes et les nématodes constituent les macroorganismes multicellulaires les plus abondants et diversifiés qui utilisent la végétation comme source d'énergie (Brussaard 1997). Lorsque deux espèces de la même guildes alimentaire exploitent simultanément un hôte, ils sont en compétition. Cette compétition peut être directe s'ils partagent le même site d'alimentation ou indirecte s'ils s'établissent sur des structures différentes d'une même plante et qu'ils ont une appétence pour les mêmes ressources, e.g. les composés azotés ou les sucres (Hol *et al.* 2013). De récentes études ont montré que les phytoparasites spatialement éloignés sur un hôte commun peuvent s'influencer indirectement par l'entremise de changements de la qualité nutritionnelle de la plante, via des métabolites primaires (Soler *et al.* 2005, Hofmann *et al.* 2010) ou des mécanismes de défense systémiques induits (SAR) en réponse à la destruction des tissus végétaux (Masters et Brown 1992, Bezemer *et al.* 2005, Soler *et al.* 2008). Ces interactions s'avèrent neutres, positives ou négatives selon les organismes impliqués (Van Dam et Heil 2011, Johnson *et al.* 2012).

1.4.2 L'interaction entre le nématode à kyste du soya et le puceron du soya

Depuis quelques années, les aires de répartition du PS et du NKS, se chevauchent sur le continent américain (Figure 1.9). À certains endroits, ils peuvent donc exploiter simultanément les mêmes plants. Bien que le puceron et le NKS se développent sur des structures végétales distinctes et physiquement éloignées l'une de l'autre, il existe probablement une interaction entre les deux organismes. Cette interaction serait modulée par la plante via sa réaction immunitaire en réponse à la présence de l'un ou des deux parasites.

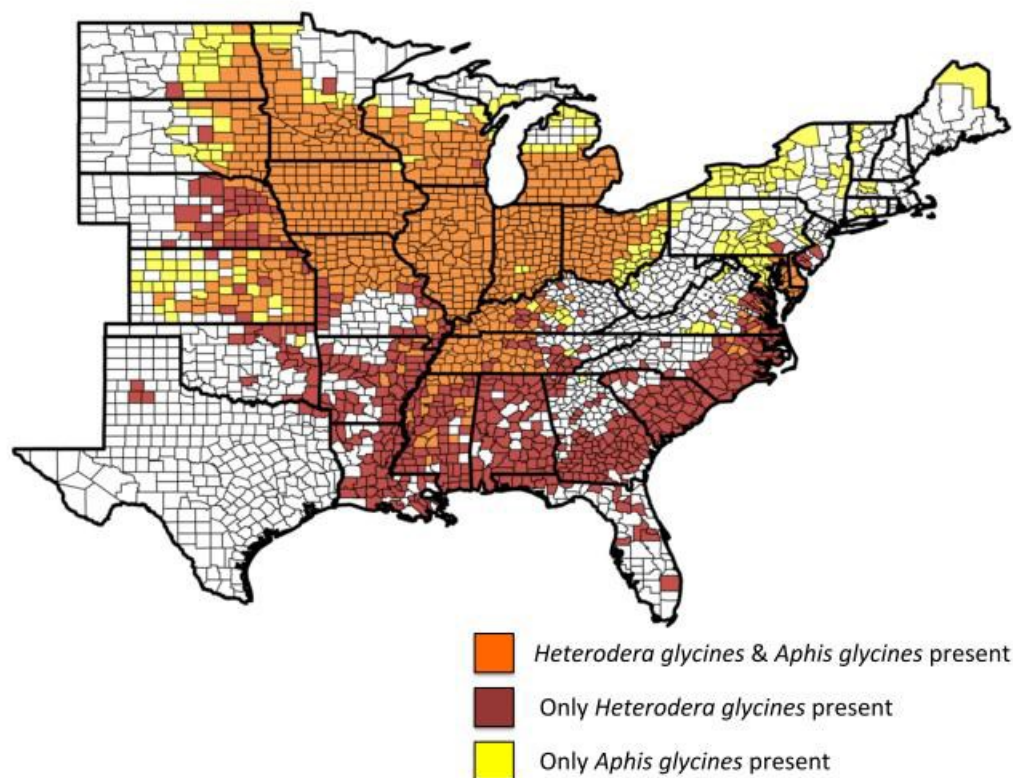


Figure 1.9: Aire de répartition de *Heterodera glycines* et *Aphis glycines* aux États-Unis. Les comtés où l'on retrouve seulement *A. glycines* sont représentés en jaune, ceux où l'on retrouve seulement *H. glycines* en rouge et ceux où les deux ravageurs sont présents en orange. Tiré de McCarville (2014)

Il existe peu d'information dans la littérature à propos des interactions entre le NKS et le PS. Les quelques études parues à ce jour (Hong *et al.* 2010, Hong *et al.* 2011, Heeren *et al.* 2012, McCarville *et al.* 2012, McCarville 2014, McCarville *et al.* 2014) démontrent toutes qu'il existe une interaction significative entre les deux ravageurs. Par contre, la nature de l'interaction demeure imprécise, puisque les approches expérimentales des différentes études diffèrent face à une même problématique.

Hong *et al.* (2010) ont étudié l'effet de la présence/absence du NKS sur la préférence et les performances du PS en serre en utilisant une seule variété de soya sensible aux deux types de parasites. De plus, ils ont respecté le décalage temporel qui existe entre

l'éclosion des nématodes et l'arrivée des pucerons en champ. Ils ont démontré que les pucerons ailés avaient une préférence significative pour les plants de soya non infestés de nématodes. Par contre, le succès reproducteur du puceron n'était pas affecté par les traitements. Il semblerait donc que la présence du NKS affecte le comportement de sélection de la plante hôte, mais non les performances reproductives du PS.

Hong *et al.* (2011) ont répété leurs travaux au champ et, de plus, mesuré l'effet de l'interaction NKS-PS sur le rendement de la culture. Ils ont remarqué le même patron : les pucerons ailés préfèrent les plants étant peu ou non parasités par les nématodes. De même, lorsque la colonie est établie, les pucerons se développent au même rythme sur les plants parasités et non parasités par le NKS. Toutefois, une nuance a été notée quant à l'effet des deux parasites sur le rendement : en présence de nématodes le nombre de gousses par plant et le nombre de grains par gousse diminuent tandis que la présence du puceron diminue le poids des grains. Puisque la densité de nématodes varie beaucoup au sein d'un même champ, ils ont pu se permettre d'utiliser une seule variété de soya résistante pour déterminer l'effet sur le rendement. Or, cette expérience est dépourvue d'un véritable traitement contrôle (sans nématode) puisque le champ en entier était infesté et qu'une variété faiblement résistante aux NKS du HG type 2 a été utilisée. De plus, l'utilisation d'une variété résistante n'empêche pas totalement les parasites de se reproduire sur les racines (Niblack *et al.* 2002).

McCarville *et al.* (2012) ont réalisé une étude dans des microparcelles en champ pour déterminer les effets de l'infestation du soya par le PS sur le NKS. Ils ont inoculé des variétés de soya résistantes et sensibles au NKS avec le NKS, le PS et *Cadophora gregata* Harrington et McNew, l'agent causal de la pourriture brune de la tige. L'expérience contenait un total de quatre traitements : puceron-nématode-champignon, puceron seulement, champignon seulement et nématode seulement. Ils ont observé une augmentation de la reproduction du NKS de 500 % ainsi qu'une diminution significative de la performance des pucerons chez les plants infestés par les trois ravageurs, autant sur les variétés sensibles que résistantes. Donc, l'interaction entre les trois parasites diminue la capacité de la plante à résister aux nématodes, mais augmente la résistance aux pucerons. Cependant, leur plan d'expérience ne leur permet pas d'isoler les effets

individuels de ces trois pathogènes. Ainsi, on ne peut savoir si l'augmentation des populations de NKS s'explique par la présence du puceron, du champignon ou à l'interaction entre ces trois ravageurs.

McCarville *et al.* (2014) se sont intéressés à l'effet de l'alimentation des PS sur la reproduction du NKS. En serre, ils ont exposé la moitié des plants de soya au NKS seulement et l'autre moitié au NKS et au PS. Pour chacun de ces traitements, des variétés sensibles et résistantes au NKS ont été utilisées. La moitié des plants a été récoltée après 30 jours pour mesurer l'effet des traitements sur une seule génération de NKS. L'autre moitié a été récoltée après 60 jours pour mesurer l'effet des traitements sur deux générations de NKS. Ils ont démontré que l'alimentation des pucerons sur le soya affectait significativement, et ce, de façon positive la reproduction du NKS. Cependant, les réponses de cette interaction variaient selon le degré de sensibilité de la variété utilisée, la densité des herbivores et la durée d'expérimentation. En général, les résultats indiquent que l'infestation de pucerons sur les variétés résistantes au NKS améliore la qualité du soya comme hôte pour ce dernier durant les 30 premiers jours après l'infestation. Cependant, aucune interaction n'a été observée après 60 jours. Pour les variétés sensibles, une diminution des performances du NKS et des pucerons a été observée après 30 et 60 jours d'expérimentation. Il est possible que l'interaction entre le NKS et le PS soit dépendante de la densité, i.e. qu'à faible densité on assisterait à une facilitation tandis qu'à haute densité, c'est la compétition qui prendrait le contrôle de l'interaction (Soler *et al.* 2013). Cependant, l'étude ne tient pas compte du décalage de quelques semaines qui existe entre l'éclosion des nématodes et l'arrivée des pucerons en conditions naturelles.

McCarville (2014) a mené conjointement deux expériences en champ, une première dans des parcelles protégées par des cages et une autre sans cages, afin de valider les résultats obtenus en serre. Quatre types de variétés de soya ont été utilisés : sensible au NKS et au PS, sensible au NKS et résistant au PS, résistant au NKS et sensible aux deux ravageurs, résistant aux deux parasites. Dans les tests en cage, une faible densité de PS affectait positivement la reproduction de NKS tandis qu'une forte densité de PS l'affectait négativement. Dans les tests sans cage, les résultats indiquent que

l'alimentation des pucerons facilite la reproduction du NKS sur les variétés sensibles au NKS et que cela n'a aucun effet significatif sur les variétés résistantes au NKS. Ces résultats s'expliquent par la densité plus faible de pucerons à l'extérieur des cages étant donné la présence d'ennemis naturels.

Heeren *et al.* (2012) ont produit une étude axée sur l'effet du NKS sur le PS et vice-versa. Ils ont inclus des traitements dans lesquels des plants de soya sensibles et résistants aux deux ravageurs n'étaient exposés à aucun phytophage, au NKS seul, au PS seul ou à une combinaison des deux. Ils n'ont pas détecté d'interactions significatives sur les préférences et performances de chacun des deux parasites sur des plants de soya résistants et sensibles en microparcelles. Les plantes furent infestées par les pucerons relativement tard dans le développement du soya, soit pendant le développement des gousses. Le chevauchement temporel entre les deux ravageurs aurait été trop court pour détecter une interaction significative. La concentration de NKS utilisée lors de l'infestation était peut-être également trop faible.

Ces études examinant la cooccurrence entre le PS et le NKS suggèrent la présence d'interactions. Cependant, les résultats sont incomplets et parfois contradictoires (Tableau 1.3). Ainsi, (i) l'infestation par le NKS diminue (McCarville *et al.* 2012) ou n'a aucun effet sur les populations de PS (Hong *et al.* 2011, Heeren *et al.* 2012), (ii) l'infestation par PS augmente (McCarville *et al.* 2012, McCarville 2014, McCarville *et al.* 2014) ou n'a aucun effet sur les populations de NKS (Heeren *et al.* 2012, McCarville 2014, McCarville *et al.* 2014) et (iii) la NKS réduit les préférences du PS (Hong *et al.* 2010, Hong *et al.* 2011). Ces disparités s'expliquent, entre autres, par la variabilité des densités de population utilisées, l'inclusion d'un autre parasite dans le plan d'expérience, la variabilité génétique entre les cultivars, le « timing » des infestations et le cadre expérimental utilisé. De plus, les conditions abiotiques, comme la disponibilité des nutriments, peuvent grandement modifier la nature des interactions entre les nématodes racinaires et les pucerons (Kutyniok et Müller 2013).

Tableau 1.3 : Résumé de la littérature sur l'interaction NKS-PS

Article	Conditions	Conclusion
Hong et al. 2010	Serre	<ul style="list-style-type: none">• PS ailé préfère plants sensibles sans NKS• Pas d'effet sur succès reproducteur du PS
Hong 2011	Champ	<ul style="list-style-type: none">• PS ailé préfère plant sans NKS (Sensible ou Résistant)• Pas d'effet sur le développement et la reproduction PS• Absence de réel témoin négatif
Heeren et al. 2012	Champ	<ul style="list-style-type: none">• Pas effet significatif du NKS sur le PS
McCarville et al. 2012	Champ	<ul style="list-style-type: none">• NKS-PS-Champignon• Ne permet pas de discriminer l'effet du NKS sur le PS
McCarville et al. 2014	Serre	<ul style="list-style-type: none">• PS facilite la reproduction du NKS
McCarville 2014	Champ	<ul style="list-style-type: none">• PS facilite la reproduction du NKS sur plants sensibles mais pas d'effet sur les résistants

1.5 L'immunité végétale via la résistance systémique acquise

Lorsqu'une plante est en contact avec un agent pathogène, elle doit, dans un premier temps, l'identifier pour être en mesure de le combattre. La réaction de défense sera modulée en fonction du type de molécule détecté par la plante. Il existe trois grands groupes de motifs moléculaires pouvant servir à initier la défense de la plante. Le premier groupe est composé de motifs moléculaires associés aux dommages causés à la plante (DAMP). Il s'agit d'une perception indirecte du pathogène puisque ce sont les molécules libérées par les cellules de la plante qui initient la réponse. Ces sécrétions surviennent lorsque les cellules sont stressées, abimées ou tuées par un pathogène (Mills 2011). Les cellules saines avoisinantes reconnaissent ces molécules et amorcent une réaction immunitaire déclenchée par les DAMP (DTI). Les nématodes à kystes pénètrent dans les racines de la plante en perçant les cellules des racines avec leur stylet par opposition aux nématodes endoparasites migratoires, qui eux, se faufilent entre les cellules, ne causant

pas de bris cellulaires au niveau des racines (Kammerhofer *et al.* 2015). L'action mécanique du stylet engendre une réaction DTI.

Le deuxième groupe est composé des motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP). Ce sont des molécules qui proviennent du pathogène et qui remplissent diverses fonctions (Mills 2011). Ils peuvent être des marqueurs moléculaires à la surface des pathogènes, ou encore des molécules excrétées par ceux-ci. Chez les nématodes, ces molécules sont soit des effecteurs ou des ascarosides. Les ascarosides sont des molécules qui sont exclusivement produites par les nématodes et qui ne sont pas impliquées dans le processus infectieux. Ces petites molécules se sont hautement conservées au cours de l'évolution (Schroeder 2015). En effet, Manosalva *et al.* (2015) ont démontré que les principaux nématodes phytoparasites ont un exométabolome contenant des ascarosides similaires. Ils ont aussi démontré que le traitement des racines avec un certain ascaroside active les défenses locales et systémiques chez *Arabidopsis* déclenchées par les PAMP (PTI). Cependant, les nématodes ont développé des moyens pour éviter le déclenchement de la défense des plantes permettant ainsi un parasitisme efficace. Dans le cas des plants résistants, ces derniers sont aptes de détecter certains effecteurs et déclenchent une réaction de défense appelée immunité déclenchée par les effecteurs (ETI). La détection des DAMP et des PAMP par la plante peuvent tous les deux causer une réaction de défense locale ou systémique en fonction de l'ampleur du signal. La réaction est systémique lorsque le signal est transmis dans les tissus éloignés de la plante. Ces tissus activent à un faible niveau certaines voies de défense permettant à la plante de combattre une éventuelle attaque de façon plus efficace.

Le dernier groupe est composé des motifs moléculaires associés aux micro-organismes (MAMP). Ce sont des molécules provenant d'organismes pathogènes, commensales ou symbiotiques (Mills 2011). Contrairement aux PAMP et aux DAMP, l'identification des MAMPs par les récepteurs de la plante engendrent toujours une réaction systémique. De plus, on appelle cette réaction de défense « induite » (ISR) puisqu'aucune réaction de défense n'est perçue à l'endroit où se trouve le micro-organisme responsable (Figure 1.10B).

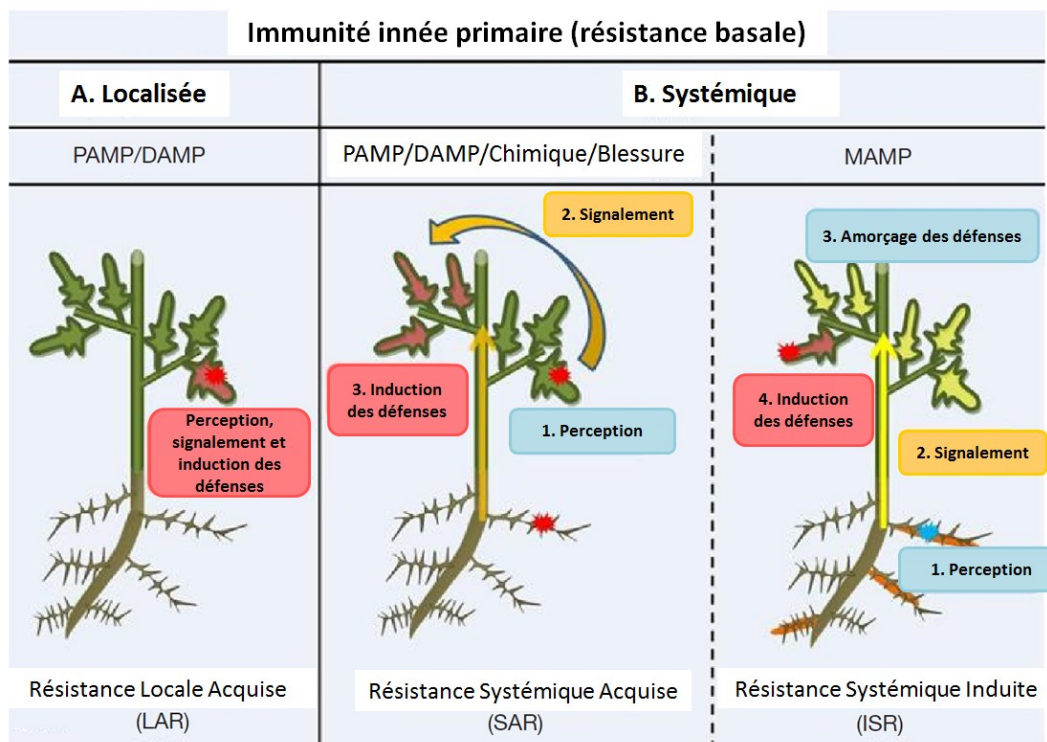


Figure 1.10: L'immunité innée primaire peut être locale (A) ou systémique (B) en fonction de la façon dont le signal de départ est perçu. Modifié de Henry *et al.* (2012)

Chez les plantes, les défenses dites systémiques impliquent obligatoirement une des cinq phytohormones principales soit; l'acide salicylique (SA), l'acide jasmonique (JA), l'éthylène (ET), l'auxine (AUX) et l'acide abscissique (ABA) (Glazebrook 2005). Les réactions systémiques sont complémentaires aux réactions locales. Elles préparent les zones éloignées du site de pénétration à une éventuelle attaque par un autre pathogène.

1.5.1 L'acide salicylique.

L'acide salicylique est connu comme étant la phytohormone responsable de la défense contre les pathogènes biotrophes (Kunkel et Brooks 2002, Shah 2003,

Glazebrook 2005, Loake et Grant 2007). Elle est synthétisée à partir de l'isochorismate ou du cinnamate, des molécules provenant de la voie métabolique des shikimates qui est stimulée lors de l'infection par un pathogène (Truman *et al.* 2006). Suite à l'infection, la SA est méthylée (Chen *et al.* 2003) en méthylsalicylate (MeSA) ce qui rend la molécule plus volatile (Seskar *et al.* 1998, Huang *et al.* 2003), donc plus mobile dans les tissus via le phloème (Yalpani *et al.* 1991). Le MeSA est aussi reconnu pour servir de signal aux plantes avoisinant celles infectées (Shulaev *et al.* 1997). Donc, une plante saine peut développer une réaction immunitaire systémique lorsqu'elle se trouve à proximité d'une autre plante malade. Lorsque le MeSA arrive dans des tissus sains, il est retransformé en SA ce qui stimule l'expression des gènes codant pour les protéines PR (Pathogenesis-related) (PR-1 à PR-5). De ces protéines, PR-1 est la plus impliquée dans la résistance systémique acquise (SAR). La SA est régulée par plusieurs boucles de rétroaction positive ou négative qui sont activées par des molécules très diversifiées (Shah 2003), dont le complexe Ca²⁺/calmoduline (Du *et al.* 2009). Cela permet à la plante d'avoir un bon contrôle sur sa réaction immunitaire puisqu'elle est apte à intégrer simultanément plusieurs stimuli (PAMP, DAMP, MAMP) dans ces boucles de rétroaction.

1.5.2 L'acide jasmonique

Une deuxième phytohormone, l'acide jasmonique (JA) est généralement responsable de la réaction de défense suite à l'attaque d'un parasite de type nécrotrophe (Glazebrook 2005). Les insectes, les bactéries et certains champignons sont considérés comme tels puisqu'ils causent la mort des cellules qu'ils exploitent. La voie métabolique des jasmonates est antagoniste à celle de l'acide salicylique. Par exemple, la plante peut limiter la production de SA en augmentant les concentrations cellulaires de JA et de méthyljasmonate (MeJA) et vice-versa (Kunkel et Brooks 2002). Comme la SA, la production de JA est régulée par une boucle de rétroaction positive (Kubigsteltig *et al.* 1999). Cependant, cet ensemble de réactions serait déclenché par du JA exogène (Miersch et Wasternack 2000). Donc, l'accumulation de JA dans un tissu est causée par du JA provenant d'une partie éloignée de la plante via le phloème ou d'une plante voisine via les composés organiques volatiles.

1.5.3 L'auxine

L'auxine (AUX) est aussi impliquée dans les mécanismes de défense contre les organismes nécrotrophes (Glazebrook 2005). Elle n'est donc pas directement impliquée dans la réponse immunitaire contre les nématodes endoparasites sédentaires. Cependant, elle demeure une phytohormone vitale au succès de l'établissement de ces derniers dans la racine. Lors de la formation du site de nutrition, les nématodes doivent induire des changements dans la paroi des cellules visées. Pour former le syncytium, la fusion des cellules est contrôlée par les voies métaboliques de l'éthylène et l'auxine qui activent l'enzyme responsable de la dégradation des parois (Goverse et Bird 2011, Goverse et Smant 2014). Les cellules géantes, quant à elles, nécessitent l'auxine ainsi que les enzymes qui dégradent les parois cellulaires, mais il semble que l'éthylène ne soit pas impliqué dans leur formation (Goverse et Bird 2011, Goverse et Smant 2014). Tout comme la JA et la SA, l'AUX et la SA interagissent de façon antagoniste, c'est-à-dire que lorsque la concentration d'AUX augmente dans les tissus, ces derniers deviennent plus sensibles aux attaques de pathogènes biotrophes puisque la présence d'AUX inhibe la synthèse de SA (Park *et al.* 2007, Navarro *et al.* 2008, Robert-Seilanianantz *et al.* 2011b).

1.5.4 L'éthylène

Le cas de l'éthylène (ET) est un peu plus complexe puisque selon la situation, cette phytohormone permet d'activer (Thomma *et al.* 1999, Norman-Setterblad *et al.* 2000) ou d'inhiber les réactions de défense (Bent *et al.* 1992, Lund *et al.* 1998, Hoffman *et al.* 1999). Tout comme la JA, l'ET est une phytohormone impliquée dans la défense contre les parasites nécrotrophes (Glazebrook 2005). Même si ces phytohormones ont une action synergique, elles contrôlent chacune un groupe de gènes différents et ne font donc pas partie de la même voie métabolique (Kunkel et Brooks 2002). Ce qui rend possible la synergie entre l'ET et la SA (Lawton *et al.* 1994, O'Donnell *et al.* 2001). Contrairement à la SA et la JA, l'ET est régulée par des récepteurs négatifs ce qui signifie que lorsque ces derniers détectent de l'ET ils en inhibent la synthèse (Hua et Meyerowitz 1998).

1.5.5 L'acide abscissique

L'acide abscissique (ABA) est une phytohormone produite lors d'un stress abiotique. Des études ont démontré que les tissus ayant une forte concentration d'ABA sont plus sensibles aux pathogènes biotrophes (Henfling *et al.* 1980, Ward *et al.* 1989, McDonald et Cahill 1999, Mohr et Cahill 2003). Il a cependant été reporté que l'ABA peut, dans certains cas, augmenter la résistance aux pathogènes (Ton *et al.* 2009). L'ABA interagirait avec les voies métaboliques de la SA (Ward *et al.* 1989), de la JA et de l'ET (Anderson *et al.* 2004, Lorenzo *et al.* 2004, Adie *et al.* 2007) pour moduler les réactions de défenses face à différents pathogènes. Il est connu que les plantes soumises à un stress abiotique sont plus sensibles aux pathogènes. L'effet de l'ABA sur les relations plantes-pathogènes n'est donc pas clair, mais il a été démontré que cette hormone est impliquée dans les réactions face aux stress biotiques autant au niveau de la partie aérienne que des racines (Robert-Seilanianz *et al.* 2011a).

1.5.6 Défense des plantes contre les nématodes et impact sur les ravageurs aériens

Pour exploiter une plante, les parasites doivent supprimer les défenses primaires de l'hôte par l'entremise d'effecteurs ou de toxines (Jones et Dangl 2006). Au cours de l'évolution, les plantes ont développé des protéines, appelées protéines R, qui leur permettent de détecter ces effecteurs (Benhamou 2009, Fu et Dong 2013). L'ETI induit la réaction d'hypersensibilité qui mène à la mort programmée des cellules infectées (Caplan *et al.* 2008). L'ETI engendre aussi une augmentation locale de la concentration de l'acide salicylique (SA) laquelle déclenche une cascade de réactions qui entraîne la synthèse de SA dans tous les tissus de la plante (Benhamou 2009, Fu et Dong 2013). L'ETI modifie aussi l'équilibre au sein des acides aminés (Pajerowska-Mukhtar *et al.* 2012) ce qui engendre la synthèse de composés phénoliques de défense à partir de la phénylalanine (Fu et Dong 2013). Ces changements hormonaux sont généralement systémiques et entraînent plusieurs modifications au niveau des métabolites secondaires (phénols, terpénoïdes et alcaloïdes) et de l'allocation des ressources aux différentes structures végétales. Cela peut avoir des conséquences sur la préférence et/ou la performance de

parasites qui exploitent des structures éloignées l'une de l'autre sur un même hôte (Hol *et al.* 2013, Wondafrash *et al.* 2013, McCarville *et al.* 2014). À titre d'exemple, Hol *et al.* (2013) ont démontré que le nématode à kyste de la betterave *Heterodera schachtii* cause une diminution de la concentration de sucres et d'acides aminés dans le phloème ainsi qu'un changement dans la composition des glucosinolates dans les feuilles, ce qui ralentit le taux de croissance du puceron cendré du chou *Brevicoryne brassicae*.

Les nématodes endoparasites sédentaires comme les nématodes à kystes sont des parasites biotrophes, mais qui causent une réaction de défense de type nécrotrophes dans les premiers jours de parasitisme. En effet, les nématodes à kystes entrent dans les racines de la plante en perçant les cellules des racines avec leur stylet par opposition aux nématodes endoparasites migratoires, qui eux, se faufilent entre les cellules, ne causant pas de bris cellulaires au niveau des racines (Wyss et Grundler 1992). L'action mécanique du stylet engendre une réaction immunitaire de type « *damage triggered immunity* » causant une augmentation de la transcription des gènes liés à la voie métabolique de la JA. Cependant, une fois le syncytium établi, le nématode agit plutôt comme un parasite biotrophe, ce qui activera les voies métaboliques de la SA (Biere et Goverse 2016). Ce changement dans le comportement de la plante en fonction du niveau d'établissement du nématode dans la racine a été observé entre *Arabidopsis* et le nématode à kyste de la betterave (*Heterodera schachtii*, Schmidt) (Kammerhofer *et al.* 2015). Ce changement drastique dans la réponse de la plante implique donc une notion de synchronisme dans l'étude des interactions parasite-parasite sur un même hôte.

Puisque les nématodes engendrent une réaction systémique chez la plante, il est probable que ces derniers interagissent avec les espèces qui colonisent la partie aérienne de la plante. Les pucerons, par exemple, sont sensibles à la JA, la SA, l'ET et l'ABA (Thompson et Goggin 2006, Smith et Boyko 2007). Ces molécules font toutes parties de la réponse systémique de la plante et sont impliquées dans le processus de résistance de la plante au puceron. Il a précédemment été démontré qu'une augmentation artificielle de la concentration de certaines phytohormones dans les tissus diminue la sensibilité des plantes aux pucerons (Dong *et al.* 2004, Cooper et Goggin 2005, Boughton *et al.* 2006, Hodge *et al.* 2006, Gao *et al.* 2007). Même si la résistance aux nématodes implique une

réaction hypersensible (HR) et que celle aux pucerons n'en engendre pas, il n'en demeure pas moins que la présence de nématodes sur les racines d'une plante peut affecter la communauté vivant sur la partie aérienne (Smith et Boyko 2007).

La relation entre les nématodes et les pucerons a été démontrée à maintes reprises. Bezemer *et al.* (2005) ont démontré que les nématodes pouvaient diminuer les populations de pucerons sur du gazon en augmentant de façon indirecte les populations de parasitoïdes. Hong *et al.* (2010) ont démontré que la présence de nématodes influence négativement le comportement du puceron lors du choix du plant pour l'alimentation. Cela est probablement dû aux composés organiques volatiles (VOC) émis par la plante qui signalent aux pucerons que la plante est déjà en train de se défendre contre un pathogène. La modification des VOC émis par la plante a le potentiel de modifier l'attraction qu'ont les prédateurs et les parasitoïdes pour les plants infestés de pucerons (Soler *et al.* 2005). McCarville *et al.* (2012) ont démontré que le PS performe moins bien en présence du NKS et du champignon *C. gregata*. Dans certains cas, il est possible qu'un gène qui confère une résistance aux nématodes soit aussi efficace pour certains parasites foliaires comme le puceron (Rossi *et al.* 1998) ou les aleurodes (Nombela *et al.* 2003). L'effet des gènes de résistance au NKS sur le développement du PS n'a été vérifié que pour la plus commune des sources de résistance.

1.6 Changements climatiques globaux et interactions entre le puceron du soya et le nématode à kyste du soya

1.6.1 Changements climatiques globaux

Les activités anthropiques ont mené à un accroissement rapide de la concentration en dioxyde de carbone atmosphérique (CO₂) et autres gaz à effet de serre (Landsberg 1970, Cotton et Pielke Sr 2007). Ces changements ont engendré une augmentation des températures de surface, de la sévérité et de la fréquence d'événements climatiques extrêmes (p. ex. sécheresses et inondations). Selon le Groupe d'Experts Intergouvernemental sur l'Évolution du Climat (GIEC), la température de surface augmentera encore de 0,3 à 4,8 °C d'ici 2081-2100. De plus, la concentration en CO₂

atmosphérique devrait continuer à croître de façon considérable d'ici 2100 (GIEC 2013). Au Québec, on prévoit que la période propice à la croissance des plantes s'allongera de 20 à 34 jours d'ici 2050 (Ouranos 2015). Ces changements auront sans équivoque d'importantes répercussions sur les cultures et leurs ravageurs associés. Selon, Teixeira *et al.* (2013), le stress thermique sur les cultures sera plus intense dans les latitudes se situant entre le 45° et 60°, ce qui correspond à celles du Canada et du nord des États-Unis. Les zones de stress les plus intenses sont de façon générale au centre des continents, où le climat est plus sec comme les prairies canadiennes ou le « Midwest » américain (Teixeira *et al.* 2013).

1.6.2 Incidence de l'augmentation de CO₂ sur les plantes

Puisque le CO₂ atmosphérique est la principale source de carbone pour la photosynthèse des plantes, une variation dans la concentration atmosphérique de ce gaz peut altérer leur morphologie et leur physiologie (Hunter 2001, Terashima *et al.* 2014). Une concentration de CO₂ atmosphérique plus élevée accroît les taux de photosynthèse et de croissance, ce qui augmente la biomasse de la plante. L'accumulation de la biomasse sous une forte concentration de CO₂ cause une réduction de la surface spécifique des feuilles (SLA), soit le ratio entre l'aire et le poids sec de la feuille, rendant ainsi les feuilles plus « coriaces » et moins facile à percer ou à mâcher par les herbivores (Curtis 1996, Ainsworth *et al.* 2002, Stiling et Cornelissen 2007). Cette accumulation de biomasse cause, de surcroît, une dilution de l'azote dans les tissus. Ainsi, le ratio C : N et la concentration en métabolites secondaires augmentent, diminuant ainsi la qualité nutritionnelle de la plante (Arnone *et al.* 1995, Coviella et Trumble 1999, Hunter 2001). La « dilution » de l'azote foliaire est due à la réduction de la quantité de Rubisco (qui représente entre 25-50% de l'azote foliaire) dans les chloroplastes, cela afin de diminuer le taux de photosynthèse lors d'une exposition prolongée à une forte concentration de CO₂ (Kanemoto *et al.* 2009, Goicoechea *et al.* 2014). L'augmentation de la concentration de CO₂ atmosphérique engendre aussi une augmentation des composés phénoliques et des tannins dans les tissus végétaux (Stiling et Cornelissen 2007). Les tanins et les composés phénoliques sont reconnus pour leur capacité à réduire l'abondance des insectes herbivores (Stiling et Cornelissen 2007). Donc, les changements climatiques

pourraient rendre les plantes moins attrayantes pour les ravageurs et ainsi réduire les pertes économiques.

Toutefois, les plantes ne répondent pas toutes de façon identique à l'augmentation de la concentration de CO₂ atmosphérique. Celles de type C3 démontreraient une plus grande diminution de qualité nutritionnelle comparativement aux plantes de type C4 (Caswell *et al.* 1973, McKenzie *et al.* 2013). Chez les légumineuses comme le soya, la dilution de l'azote serait moindre puisque les bactéries symbiotiques dans les nodules sont aptes à fournir plus d'azote à la plante en réponse à une concentration de CO₂ atmosphérique élevée (Zavala *et al.* 2013). Pour cette raison, le soya pourra maintenir sa croissance tout en évitant la carence en azote et ainsi conserver ses qualités alimentaires (Ainsworth *et al.* 2002). Cela pourrait engendrer une augmentation de l'intensité du parasitisme et de l'herbivorie sur ces plantes étant donné leur plus grande biomasse (Guo *et al.* 2013, Guo *et al.* 2014, Johnson *et al.* 2014).

1.6.3 Altération des interactions entre les phytophages foliaires et racinaires

À ce jour, peu d'études décrivent les interactions entre les phytophages foliaires et racinaires sur une plante hôte commune dans un contexte de changements climatiques (McKenzie *et al.* 2013). Chez les organismes poïkilothermes comme les insectes et les nématodes, la température régule le métabolisme. Ainsi, une variation de la température induit des changements dans le voltinisme, la durée du cycle de vie et la répartition géographique des ravageurs des cultures (Bale *et al.* 2002, Jamieson *et al.* 2012, Zavala *et al.* 2013). Ces changements sont généralement associés avec une augmentation de la température (Bale *et al.* 2002). Par exemple, la vitesse de développement et le taux d'alimentation des organismes poïkilothermes ont tendance à doubler avec une augmentation de la température de 10 °C (Bale *et al.* 2002, Berggren *et al.* 2009). La répartition géographique des insectes herbivores est souvent limitée dans les régions nordiques par les températures plus froides et, parfois, par l'absence de la plante hôte. L'augmentation des températures allongerait également la saison de croissance du soya ce qui permettra d'utiliser des variétés plus tardives, impliquant ainsi une augmentation

du voltinisme pour certains ravageurs (Gendron-St-Marseille 2013). Certaines espèces de pucerons sont possiblement en mesure de compenser pour les changements de qualité nutritionnelle de la plante en produisant leurs propres acides aminés à l'aide d'endosymbiotes (Hughes et Bazzaz 2001, Guo *et al.* 2013). L'augmentation de la concentration de CO₂ atmosphérique renforce la voie de défense de la SA qui est inefficace contre les pucerons tout en bloquant partiellement la voie de la JA et de l'ET chez les légumineuses (Casteel *et al.* 2012, Guo *et al.* 2014). Chez le PS, les taux de croissance et de reproduction augmentent en réponse à la hausse de concentration de CO₂ atmosphérique entre 600 et 700 ppm, ce qui a pour résultat d'augmenter significativement le nombre d'individus par plant (Dermody *et al.* 2008, O'Neill *et al.* 2011). Cependant, il n'existe pas d'études sur l'effet de concentrations plus élevées comme celle de 1000 ppm attendue en 2100.

Quant aux parasites racinaires, la réponse face aux changements climatiques demeure encore peu connue (Johnson et Murray 2008, Gendron-St-Marseille 2013, McKenzie *et al.* 2013). L'augmentation des concentrations de CO₂, n'influence pas significativement les populations de nématodes phytoparasites (Yeates *et al.* 1997, Ayres *et al.* 2008). Le nombre de générations de NKS par saison de croissance devrait, lui aussi, augmenter proportionnellement avec la température et, par conséquent, accroître la densité de NKS par plant (Boland *et al.* 2004, Gendron-St-Marseille 2015).

Chapitre 2 : Objectifs et Hypothèses

Objectif général

Évaluer l'impact de l'arrivée du NKS sur la relation existante entre le soya et le PS. Plus précisément, déterminer l'impact du NKS sur les traits d'histoire de vie du PS et sur la réaction de défense foliaire du soya suite à l'infestation par le NKS.

Objectifs Chapitre 3

Objectif 1 Déterminer l'impact de la présence du NKS sur la survie et la fécondité du PS, sur des cultivars sensibles et résistants au NKS

Hypothèse a : Le PS aura une meilleure survie et un meilleur succès reproducteur sur les plants infestés de NKS.

Justification : Hoysted *et al.* (2017) ont démontré qu'un nématode endoparasite peut augmenter la valeur adaptative d'un puceron. Cependant, des études faites sur le NKS et le PS n'ont pas réussi à démontrer cette relation (Hong *et al.* 2010, Hong *et al.* 2011). Or, cet effet est probablement densité dépendant (Tylka 2016). C'est pourquoi une forte densité de NKS sera utilisée dans les expériences du chapitre 3.

Hypothèse b : Le PS aura une meilleure survie et un meilleur succès reproducteur sur les plants résistants au NKS.

Justification : Les plants de soya qui possèdent un gène de résistance au NKS sont aptes à se défendre contre ces derniers (Klink *et al.* 2009a, Klink *et al.* 2010). La réaction de défense devrait être alors plus marquée et donc influencer plus fortement le PS

Objectif 2 Évaluer l'impact des changements climatiques, en termes de concentration en CO₂, sur la survie et la fécondité du PS en présence du NKS.

Hypothèse Le PS aura une meilleure survie et un meilleur taux de reproduction dans les conditions climatiques du futur proche (750ppm de CO₂) que dans les conditions actuelles (400ppm) ou futures (1000ppm).

Justification : La plupart des études sur l'impact du CO₂ sur la performance des insectes se limitent à une concentration maximale de 600 ppm et décrivent une hausse de la valeur adaptative des pucerons sur les légumineuses (Hughes et Bazzaz 2001, Stiling et Cornelissen 2007, Ayres *et al.* 2008, Dermody *et al.* 2008, Guo *et al.* 2013). Cependant, cette croissance est intimement liée au ratio carbone:azote dans les feuilles (Kanemoto *et al.* 2009, Sulieman *et al.* 2015) qui pourrait ne pas être soutenu à une forte concentration de CO₂.

Objectifs Chapitre 4

Objectif 1 Évaluer si la réaction de défense de la plante contre le NKS se transpose dans les feuilles et si cette réaction a le potentiel d'influencer le PS.

Hypothèse La réaction de défense engendrée par le NKS dans les plants de soya se transposera dans les feuilles.

Justification : Suite au contrôle local d'un pathogène, la plante envoie généralement un signal aux tissus éloignés afin d'amorcer une réaction de défense (Conrath *et al.* 2002, Conrath *et al.* 2006, Jung *et al.* 2009).

Objectif 2 Quantifier et caractériser dans le temps la résistance systémique acquise du soya suite à l'infection par le NKS selon le type de cultivars de soya (sensible ou résistant au NKS).

Hypothèse Les cultivars résistants au NKS auront une réaction de défense foliaire plus marquée que les cultivars sensibles

Justification : Suite au contrôle local d'un pathogène, la plante envoie généralement un signal aux tissus éloignés afin d'amorcer une réaction de défense (Conrath *et al.* 2002, Conrath *et al.* 2006, Jung *et al.* 2009). Ce signal devrait être plus fort chez le cultivar résistant que chez le sensible puisque ceux-ci ont une réaction de défense locale beaucoup plus prompt et efficace que les sensibles (Alkharouf *et al.* 2006, Klink *et al.* 2009a, Klink *et al.* 2010).

Chapitre 3 : Influence du nématode à kyste, *Heterodera glycines*, sur la performance du puceron, *Aphis glycines*, sur des cultivars de soya sensibles ou résistants au nématode dans un milieu enrichi en CO₂

3.1 Résumé

Depuis l'arrivée du puceron du soya (PS) au Québec en 2000, les populations estivales sont généralement maintenues sous des seuils acceptables grâce aux auxiliaires de culture. Cependant, depuis 2013, le nématode à kyste du soya (NKS) a fait son entrée dans les champs québécois. Puisque ce dernier colonise les plants quelques semaines avant le puceron en début de saison de croissance, il a l'opportunité de modifier la relation entre la plante et le PS. De plus, l'utilisation de cultivars résistants au NKS et l'augmentation des concentrations de CO₂ atmosphérique peuvent moduler l'interaction entre les deux ravageurs. Nous avons testé l'impact de l'effet de l'infestation du NKS sur les traits d'histoire de vie du PS sur quatre cultivars et sous trois concentrations de CO₂ différentes. Il a été démontré que les cultivars résistants ne perdent pas leur résistance au NKS en conditions de CO₂ élevé. Par ailleurs, le choix de cultivar n'a pas eu d'impact sur la longévité et le temps de développement du PS. Par contre, l'augmentation de la concentration de CO₂ a diminué le temps de développement du PS de 14 % et la fécondité totale de 30 % en présence du NKS. En conséquence, l'arrivée du NKS ne devrait pas avoir d'impact négatif sur la gestion actuelle du PS en terre québécoise.

3.2 Introduction

Depuis le début des années 2000, les aires de répartition du puceron du soya (PS) et du nématode à kyste du soya (NKS), deux organismes exotiques envahissants, se chevauchent sur le continent américain (McCarville 2014). Bien que le PS et le NKS se développent sur des structures végétales distinctes et physiquement éloignées l'une de l'autre (feuille vs racine), il est probable que les deux organismes interagissent (Hong *et*

al. 2010). Cette interaction serait modulée par la plante via sa réaction immunitaire en réponse à la présence des deux parasites.

Il existe des informations dans la littérature à propos des interactions entre le NKS et le PS, mais aucune ne concerne la modulation de cette interaction dans un contexte de changements climatiques. Les études parues à ce jour (Hong *et al.* 2010, Hong *et al.* 2011, Heeren *et al.* 2012, McCarville *et al.* 2012, McCarville 2014, McCarville *et al.* 2014) démontrent l'existence d'une interaction significative entre les deux ravageurs. Cependant, les résultats divergent entre les différentes études. Ainsi, selon certaines études (i) l'infestation par le NKS affecte négativement (McCarville *et al.* 2012) ou n'a aucun effet sur le développement des populations de PS (Hong *et al.* 2011, Heeren *et al.* 2012), (ii) l'infestation par le PS augmente (McCarville *et al.* 2012, McCarville 2014, McCarville *et al.* 2014) ou n'a aucun effet sur les populations de NKS (Heeren *et al.* 2012, McCarville 2014, McCarville *et al.* 2014) et (iii) le NKS réduit les préférences du PS pour les plants de soya infestés de NKS (Hong *et al.* 2010, Hong *et al.* 2011). Ces disparités s'expliquent, entre autres, par la variabilité des densités de population utilisées (du NKS ou du PS), l'inclusion d'un autre parasite dans le plan d'expérience, la variabilité génétique entre les cultivars, le moment (synchronisation) des infestations, et le cadre expérimental utilisé (champ, serre, labo). De plus, les conditions abiotiques, comme la disponibilité des nutriments, peuvent grandement modifier la nature des interactions entre les nématodes racinaires et les pucerons (Kutyniok et Müller 2013).

D'autres parts, les changements climatiques auront certainement un impact sur la nature des interactions entre les ravageurs foliaires et racinaires. En effet, l'augmentation de la concentration atmosphérique de CO₂ a un effet non seulement sur les plantes (Ainsworth *et al.* 2002, Terashima *et al.* 2014, Sulieman *et al.* 2015), mais aussi sur les pucerons (Arnold *et al.* 1995, Hughes et Bazzaz 2001, O'Neill *et al.* 2011, Guo *et al.* 2013, Guo *et al.* 2014). Chez le PS, les taux de croissance et de reproduction augmentent en réponse à la hausse de concentration de CO₂ atmosphérique (Dermody *et al.* 2008, O'Neill *et al.* 2011). Ces facteurs varient aussi en fonction de la température. En effet le taux de croissance et de reproduction augmentent de 10 à 25 °C et diminuent lorsque la température dépasse ce seuil (McCornack *et al.* 2004).

Le développement des nématodes à kystes est aussi affecté par la température (Franco 1979, Alston et Schmitt 1988). Par contre, ils ne sont pas affectés par l'augmentation de la concentration du CO₂ atmosphérique (Yeates *et al.* 1997, Ayres *et al.* 2008). Par contre, la proportion des différents groupes fonctionnels (herbivores, fongivores, etc.) de nématodes dans le sol change lorsque le CO₂ ambiant est augmenté (Neher *et al.* 2004). En revanche, l'augmentation de la température du sol dans un contexte de réchauffement climatique causera sans doute une accélération de la complétion du cycle de vie du NKS permettant ainsi un plus grand nombre de générations par année (Gendron-St-Marseille 2013). Ayres *et al.* (2008) proposent qu'un mécanisme inconnu, antagoniste à la diminution de la durée du cycle de vie des nématodes phytoparasites, puisse expliquer l'absence d'effet de l'augmentation de CO₂ sur les populations. Toutefois, la réponse des parasites racinaires aux changements climatiques est encore peu connue (Johnson et Murray 2008, Gendron-St-Marseille 2013, McKenzie *et al.* 2013). À ce jour, peu d'études décrivent les interactions entre les phytophages foliaires et racinaires sur une plante hôte commune dans un contexte de changements climatiques (McKenzie *et al.* 2013).

Le présent projet avait pour objectif d'évaluer l'impact des cultivars de soya résistants au NKS et des changements climatiques sur l'interaction entre le NKS et le PS. Dans un premier temps, l'impact d'une infestation de NKS sur les traits d'histoire de vie du PS a été évalué au laboratoire sous des conditions climatiques actuelles et sur des cultivars sensibles au NKS. Dans un deuxième temps, l'impact de l'utilisation de cultivars résistants et sensibles au NKS sur la relation NKS-PS dans les conditions climatiques actuelles a été étudié. Finalement, l'effet de l'augmentation de la concentration du CO₂ sur les traits d'histoire de vie du PS sur des cultivars résistants infestés de NKS a été testé.

3.3 Matériel et méthodes

Élevage des pucerons et des nématodes

Élevage de PS

Les individus d'*A. glycines* utilisés pour amorcer un élevage provenaient de captures effectuées en Montérégie. Leur multiplication s'est déroulée sur des plants de soya du cultivar OAC Wallace (SeCan, ON, Canada) incubés dans un cabinet de croissance au Centre de recherche et de développement de St-Jean-sur-Richelieu d'Agriculture et Agroalimentaire Canada. Ce cultivar a été sélectionné puisqu'il est hâtif et sensible au PS ainsi qu'au NKS (SECAN 2018). Les plants de soya supportant les colonies de pucerons étaient gardés dans des cages de mousseline à l'intérieur du cabinet de croissance. L'élevage était réapprovisionné de jeunes plantules de soya (stade V1-V2 : 1 ou 2 feuilles trifoliées déroulées) toutes les 2-3 semaines, selon la qualité des plants dans l'élevage (les plants qui atteignaient le stade reproductif, soit le début de la floraison étaient retirés et remplacés). L'élevage était maintenu à 25°C, avec une photopériode de 16 :8 (L :D), et une humidité relative de 60 %. Tous les plants de soya de cette expérience ont été élevés dans les mêmes conditions pour limiter l'influence du substrat et de la fertilisation sur les résultats. Les grains ont été semés dans un mélange de sable de plage et de maçonnerie. Ce mélange facilite grandement la récolte et le dénombrement des nématodes, mais est très peu nutritif pour la plante. C'est pourquoi les plants étaient arrosés avec une solution fertilisante de 20-8-20 ajustée à une concentration de 150 ppm d'azote du lundi au jeudi, avec une solution de 14-0-14 à 150 ppm d'azote le vendredi et avec de l'eau le samedi et le dimanche. La fertilisation s'étalait sur cinq jours pour éviter l'augmentation de salinité du sol, ce qui aurait pu endommager les racines.

Préparation des pucerons

La veille du début d'une expérience, des femelles adultes aptères étaient isolées sur des feuilles de soya. Les feuilles étaient conservées sur un papier-filtre humide dans un plat de Pétri pour environ 24 h. Le jour du début de l'expérience, les pucerons de stade I nés pendant la nuit étaient déposés dans des « clips-cages » à l'aide d'un pinceau à poils

fins humidifiés et y restaient pendant toute la durée des tests de performance décrits dans cette section.

Élevage de NKS

Un élevage de NKS a été mis en place à la station de recherche d'Agriculture et Agroalimentaire Canada de St-Jean-sur-Richelieu. La population utilisée (ON1) provenait du Centre de Recherche et Développement de Harrow, Ontario, Agriculture et Agroalimentaire Canada. Cette population de HG type 2.5.7 était peu virulente. Les nématodes ont été élevés sur le cultivar sensible Lee74 dans une serre dont la température était maintenue à $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ avec une photopériode de 16 :8 (L : D). L'arrosage des plants se faisait quatre fois par jour soit à 8 h, 12 h, 16 h et 20 h pendant 30 secondes. Le débit était ajusté en fonction du stade de développement de la plante. Un fertilisant était ajouté à l'eau selon la même régie que pour l'élevage de pucerons. Après 60 jours, soit deux cycles complets de reproduction du NKS, les plants étaient coupés et remplacés par de nouveaux dans le même pot. Après six générations de NKS, le sol était séché et les kystes de nématodes récoltés par flottaison selon le protocole de Fenwick (1940).

Préparation de l'inoculum

Cinq jours avant l'inoculation des plants, les kystes ont été hydratés en les immergeant dans l'eau du robinet à température pièce jusqu'au début de l'expérience. Le jour de l'inoculation, les kystes ont été broyés et les œufs recueillis dans des tamis selon le protocole modifié de (Faghihi et Ferris 2000). La modification du protocole consistait à actionner manuellement le pressage des kystes contre les tamis à l'aide d'un bouchon de caoutchouc plutôt que d'utiliser un rotor électrique pour le faire. Les œufs ainsi extraits des kystes étaient alors comptés et la concentration ajustée à ~ 5000 œufs par ml d'eau. Les plants de soya ont été inoculés le jour même afin d'éviter l'éclosion des larves et d'assurer l'homogénéité de la solution d'œufs. L'efficacité de l'infestation par le NKS ainsi que la performance des cultivars résistants lors des expériences décrites ci-dessous a été vérifiée à l'aide du *Female Index* (Équation 3.1)

$$FI = \frac{\text{Nombre moyen de femelles et de kystes issus de la variété à caractériser}}{\text{Nombre moyen de femelles et de kystes issus de la variété sensible}} \times 100$$

Équation 3.1 : Formule mathématique pour calculer le Female Index (FI). Tiré de Riggs et Schmitt (1988)

Tableau 3.1 : Seuils pour déterminer le niveau de résistance d'un cultivar à une population de NKS donnée. Tiré de Niblack *et al.* (2009) préalablement modifié de Schmitt et Shannon (1992)

Female Index	Niveau de résistance
< 10	Résistant
10 à < 30	Modérément résistant
30 à < 60	Modérément sensible
> 60	Sensible

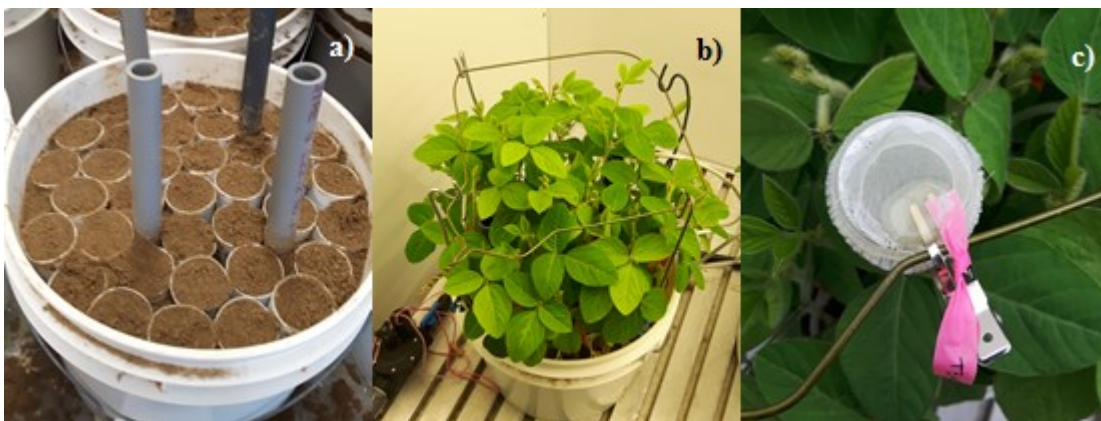
Tests de performance du PS

Interaction NKS x PS sur cultivars sensibles

Deux chaudières de 13 litres (3,5 US gallons) contenant 36 « cone-tainers » de 125 ml (Stuewe and Sons Inc., OR, USA) ont été placées dans une chambre de croissance à 400 ppm de CO₂ (Figure 3.1a). La température a été fixée à 25 °C et l'humidité relative à 50 %. Cette température permet au PS d'avoir un taux de croissance populationnel (λ) maximum (McCornack *et al.* 2004). Le régime de lumière était de 16 h de lumière et 8 h de noirceur. Chaque chaudière contenait six plants de chacune des deux variétés sensibles au NKS : *OAC Wallace* (SeCan, ON, Canada), *Ussurijskaja 431* (Agricultural Research Service, USDA) répartis de façon entièrement aléatoire (Figure 3.1b). La moitié des plants a été inoculée avec 1ml de la solution d'œufs de NKS. Le nombre d'œufs de NKS

par cm^3 de sol représente le double de la concentration normalement utilisée pour tester la résistance nouveaux cultivars de soya au NKS et représente donc une forte infestation (Niblack *et al.* 2009). Les tests de performance du PS ont eu lieu dans des « clip-cages » mises sur la dernière feuille trifoliée déployée des plants de soya au stade V2-V3, soit deux semaines après l'inoculation du NKS. Les « clip-cages » de 35 mm de diamètre étaient perforées et couvertes de mousseline pour permettre une bonne aération (Figure 3.1c). Le protocole utilisé a été inspiré de Donaldson et Gratton (2007). Un puceron nouveau-né (± 24 h) a été déposé par « clip-cage » à raison de un par plant pour un total de 24 pucerons par répétition. L'observation des pucerons se faisait chaque jour à la même heure pendant toute la durée de l'expérience. Le passage d'un stade à l'autre était estimé par l'observation des mues. Le nombre de jours entre la naissance et l'atteinte du stade adulte, marqué par la quatrième mue, a été considéré comme le temps de développement du puceron. Tous les jours suivants, les jeunes produits par les pucerons ont été dénombrés et retirés de la cage pour déterminer la fécondité. La longévité correspondait à la période entre l'atteinte du stade adulte et la mort. Les tests s'arrêtaient à la mort du dernier puceron. L'expérience a été répétée deux fois dans le temps.

Figure 3.1 : Dispositif expérimental. a) Chaudières remplies de « cone-tainers ». b) Chaudière avant l'installation des « clip-cages ». c) clip-cages



Interaction NKS x PS sur cultivars résistants

Les mêmes conditions expérimentales que celles décrites dans la section précédente ont été utilisées dans ces expériences. Chacune des deux chaudières contenait six plants de chacune des variétés suivantes: *OAC Wallace*, *Ussurijscaja 431*, S14-M4 (Cultivar Résistant Peking; Syngenta Canada, ON, Canada), HS09RYS12 (Cultivar Résistant PI88788; Dow AgroSciences Canada Inc., AB, Canada) répartis de façon entièrement aléatoire. Le cultivar PI88788 est partiellement résistant à la population de NKS utilisée tandis que le cultivar Peking est très résistant. Tous les plants ont été inoculés avec des œufs de NKS puisqu'il s'agit d'une simulation de l'an 2050, quand le NKS aura probablement colonisé toutes les zones cultivables du Québec. Les tests de performance du PS sont identiques à ceux de l'expérience précédente. L'expérience a été répétée deux fois dans le temps.

Interaction NKS x PS sur cultivars résistants et changements climatiques

Les expériences se sont déroulées dans trois conditions climatiques différentes simulées dans trois chambres de croissance. Les concentrations étaient de 400 ± 50 ppm, 750 ± 50 ppm et 1000 ± 50 ppm pour simuler les conditions actuelles et celles prévue en 2050 et 2100, respectivement (Ouranos 2015). Les différentes concentrations de CO₂ ont été maintenues à l'aide de sondes qui déclenchent des injecteurs de CO₂ au besoin. Comme dans les expériences décrites précédemment, la température a été fixée à 25 °C et l'humidité relative à 50 %. Le régime de lumière était de 16 h de lumière et 8 h de noirceur. L'expérience a été répétée deux fois dans le temps.

Chacune des chambres de croissance était considérée comme un bloc. On retrouvait dans chacune d'elles deux chaudières contenant six plants de chacun des cultivars résistants au NKS présentés dans la section précédente. Tous les plants ont été inoculés avec des œufs de NKS. Les données ont été collectées selon le même protocole que l'expérience précédente.

Analyses statistiques

La normalité des données a été vérifiée avec un test de Shapiro-Wilk ($p > 0,1$). Les données qui respectaient une distribution normale ont été analysées à l'aide d'analyses de variance (ANOVA) ($p < 0,05$) suivi d'un test des moyennes de Duncan. Les autres données furent analysées avec un test de Scheirer Ray Hare (Scheirer *et al.* 1976) sauf pour les données du temps de développement du volet sur les cultivars résistant qui ont été analysées avec un test de Wilcoxon (Wilcoxon 1945), le test de Scheirer Ray Hare ne permettant pas de tester une seule variable indépendante. L'analyse du pourcentage de mortalité a été effectuée à l'aide d'un test de t. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R version 3.4.4 (R Development Core Team 2018)

3.4 Résultats

Aucune différence significative ($F_{(1,44)} = 0,034$ $p = 0,854$) n'a été observée entre le nombre de kystes se développant sur l'un ou l'autre des cultivars sensibles utilisés (Ussu et Wallace). Une moyenne de 2687 ± 728 kystes était retrouvé sur ces plants de soya confirmant l'efficacité de la méthode d'inoculation et la virulence des nématodes utilisés (Figure 3.2). Les plants de soya soumis à des concentrations élevées en CO_2 présentaient de plus grandes densités de NKS ($F_{(1,44)}=6,735$, d.d.l.=45, $p = 0,013$) que les plants cultivés en conditions normales. En comparaison avec les cultivars sensibles, les lignées résistantes ont conservé un bon niveau de résistance en présence de concentration plus élevées de CO_2 (Figure 3.2). Par contre, le nombre de kystes se développant sur la lignée PI88788 était significativement plus élevé à 1000 ppm de CO_2 en comparaison avec les conditions actuelles de 400 ppm (Figure 3.2). D'ailleurs, cette lignée présentait un « Female Index » (FI) de près de 30, signifiant que ce cultivar n'est que moyennement résistant contre la population de NKS utilisée (Tableau 3.2). Bien que l'on observe une certaine variabilité du FI en fonction des concentrations de CO_2 , il n'y a pas de différence significative entre les traitements pour ce cultivar ($F_{(2,3)}=1,346$, d.d.l.=5, $p=0,383$). Quant à Peking, la valeur du FI demeure sous la valeur de 10 signifiant que le cultivar est résistant contre la population de NKS ON1 (Tableau 3.2). Le FI ne varie pas significativement lors que la concentration de CO_2 augmente ($F_{(2,3)}=1,085$, $p=0,442$).

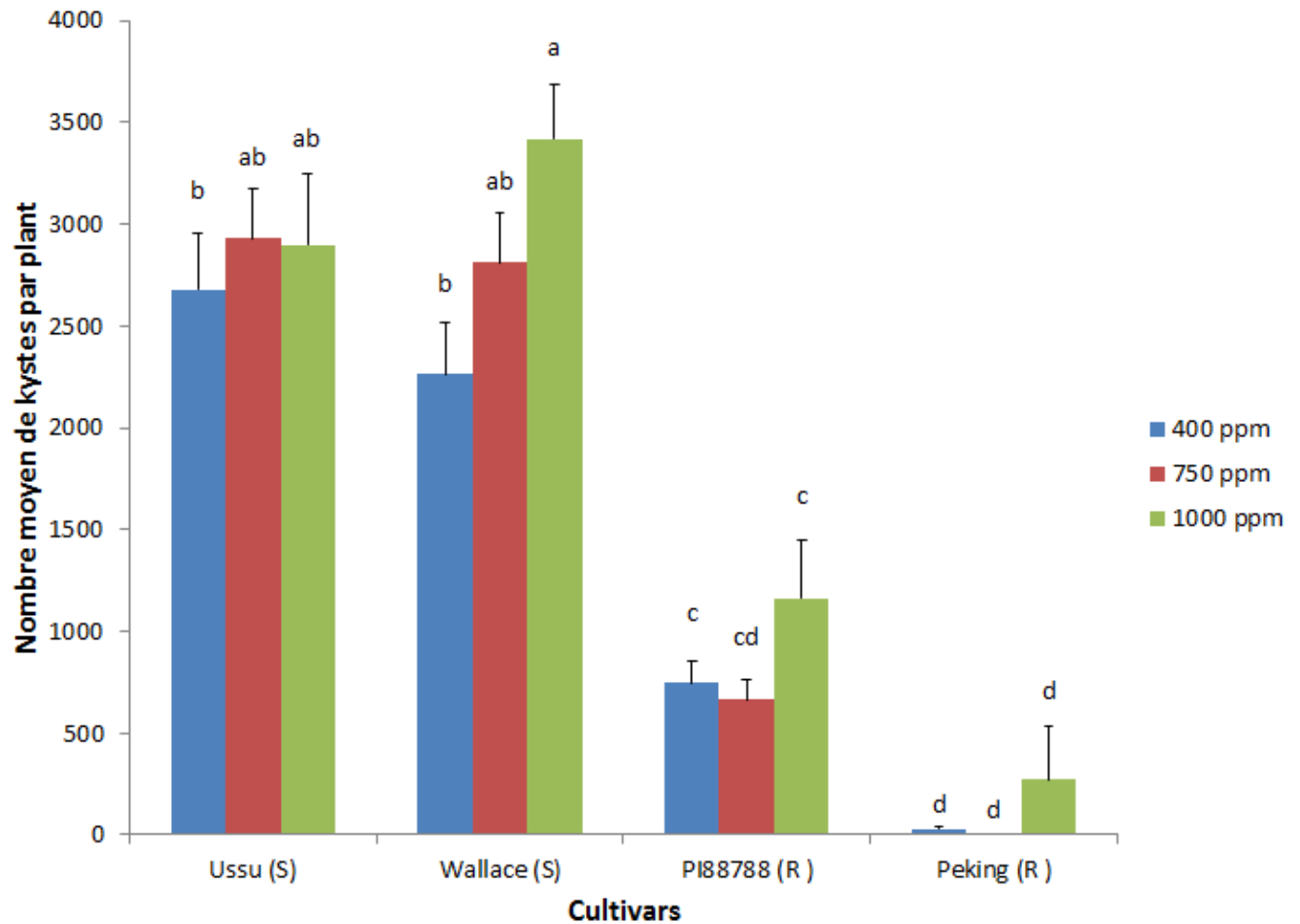


Figure 3.2: Nombre moyen de kystes de NKS par plant chez deux cultivars sensibles (S) et deux résistants (R) au NKS dans les concentrations de CO₂ actuelles (400 ppm) et en conditions de CO₂ enrichies. Les barres verticales représentent l'erreur-type. Des lettres différentes au dessus des histogrammes représentent des valeurs significativement différentes suite à une ANOVA et comparaison multiple avec test de Duncan

Tableau 3.2 : « Female Index » des cultivars résistants lorsque comparés au cultivar sensible *Ussurijscaja 431*. La moyenne et l'écart-type standard ont été calculés en séparant les répétitions de l'expérience dans le temps.

Concentration CO ₂ (ppm)	Cultivar résistant	Female Index (FI) moyen \pm ET	Niveau de résistance à la population de NKS ON1
400	PI88788	29,02 \pm 7,90	Modérément résistant
	Peking	1,11 \pm 1,27	Résistant
750	PI88788	18,52 \pm 4,81	Modérément résistant
	Peking	0,15 \pm 0,01	Résistant
1000	PI88788	34,39 \pm 14,32	Modérément sensible
	Peking	0,21 \pm 0,09	Résistant

Interaction NKS x PS sur cultivars sensibles

Le temps de développement moyen du PS était de $7,0 \pm 1,2$ jours. Aucune différence significative n'a été détectée entre les deux cultivars sensibles ($H=0,338$; d.d.l.=24; $p=0,561$). La présence du NKS n'influence pas non plus le temps de développement du PS ($H=0,996$, d.d.l.=24, $p=0,318$). L'interaction entre le cultivar et le NKS n'était pas non plus significative ($H=0,136$, d.d.l.=24, $p=0,712$) (Figure 3.3 a).

La longévité des PS variait entre 6 et 24 jours (Figure 3.3b). Cependant, la différence observée entre les cultivars n'était pas significative ($F_{(1,21)}=3,610$; d.d.l.=24; $p=0,0712$). La présence du NKS n'a pas non plus influencé la longévité du PS sur les plants de soya ($F_{(1,21)}=0,026$, d.d.l.=23, $p=0,872$). Il n'y avait pas d'interactions entre le NKS et le cultivar sur la longévité du PS ($F_{(1,21)}=0,969$, d.d.l.=24, $p=0,336$).

En moyenne, un PS produisait 24 ± 14 jeunes au cours de sa vie (Figure 3.3c). Il n'y avait aucune différence significative entre les cultivars ($F_{(1,23)}=2,549$, d.d.l. =26, $p=0,973$), le NKS ($F_{(1,23)}=0,001$, d.d.l.=26, $p=0,124$) ou encore d'interaction entre ces

paramètres ($F_{(1,23)}=1,969$, d.d.l.=26, $p=0,174$). Le nombre de jeunes produit quotidiennement par le PS n'était pas influencé significativement par le cultivar ($F_{(1,21)}=0,176$, d.d.l.=23, $p=0,478$), le NKS ($F_{(1,21)}=0,128$, d.d.l.=23, $p=0,725$), ou l'interaction entre les deux ($F_{(1,21)}=0,327$, d.d.l.=23, $p=0,574$) (Figure. 3.3d).

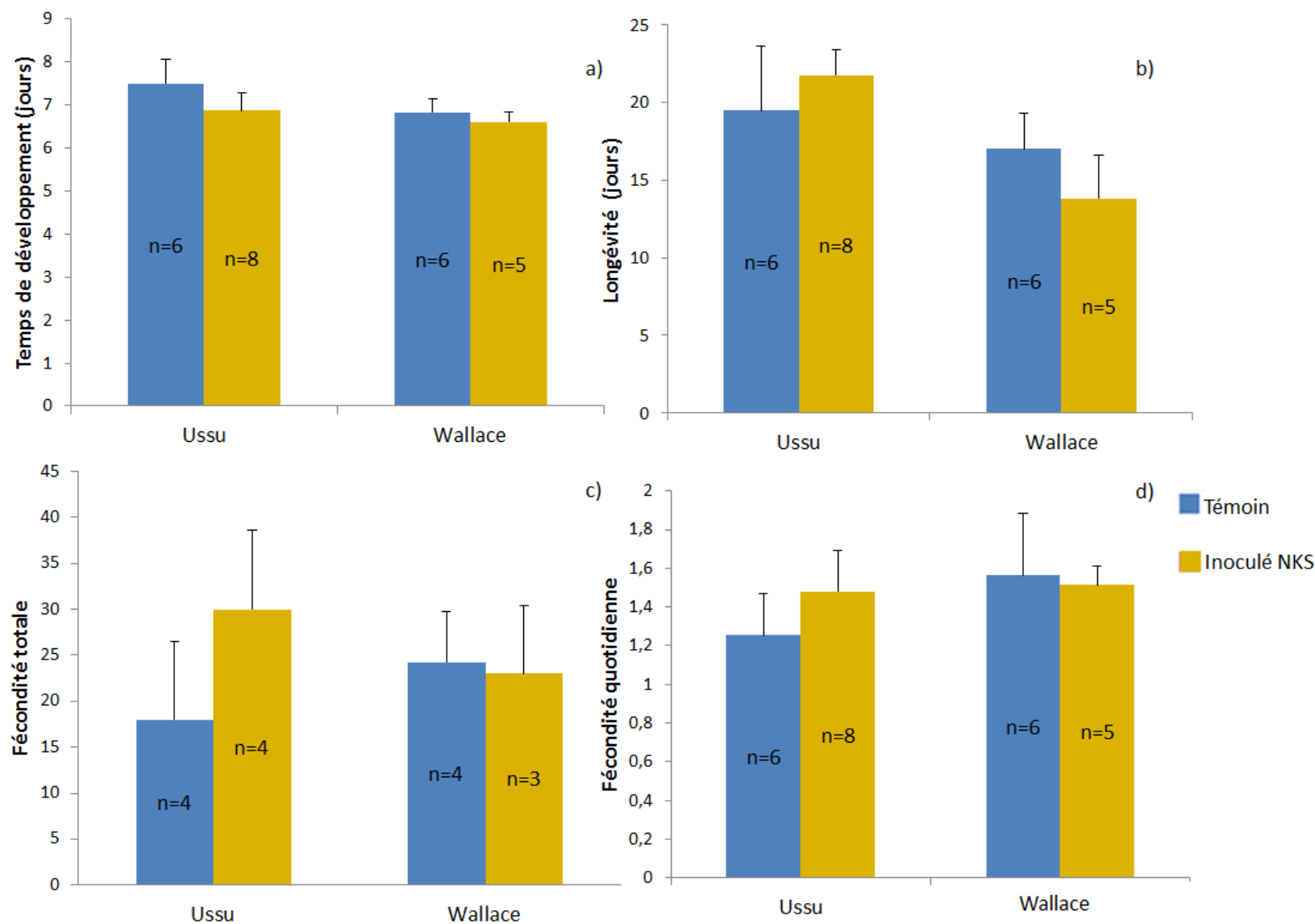


Figure 3.3 : Impact de la présence du nématode à kyste du soya sur les traits d’histoire de vie du puceron du soya sur deux cultivars sensibles au nématode à kyste du soya : a) Temps de développement; b) Longévité; c) Fécondité totale; d) Fécondité quotidienne. Les barres verticales représentent l’erreur-type.

Interaction NKS x PS sur cultivars résistants

Le temps de développement moyen du PS était similaire entre les cultivars sensibles et résistants, et variait entre $6,6 \pm 0,5$ et $7,1 \pm 1,9$ jours (Figure 3.4a). La différence observée entre les échantillons lors du test de Wilcoxon n'était pas significative (Tableau 3.3).

Tableau 3.3 : Résultats du test de Wilcoxon pour l'impact des cultivars infestés de NKS sur le temps de développement du PS.

Cultivar 1	Cultivar 2	W	p
Ussu	Wallace	21	0,937
Ussu	PI88788	30	0,855
Ussu	Peking	22	0,812
Wallace	PI88788	20	0,705
Wallace	Peking	15	0,600
PI88788	Peking	17,5	1,00

La longévité moyenne du PS oscillait entre $13,8 \pm 6,2$ et $22,5 \pm 5,8$ jours et n'était pas influencée par l'usage de cultivars résistants de type PI88788 et Peking ($F_{(3,20)}=2,396$; $p=0,098$; Figure 3.4b). On remarque quand même que la longévité moyenne du PS est légèrement plus courte sur le cultivar *OAC Wallace* que sur les trois autres cultivars.

Quant à la fécondité totale, elle variait entre $17,3 \pm 10,0$ et $38,0 \pm 4,5$ jeunes par femelle. Le nombre total de jeunes produits était significativement moins élevé chez le cultivar sensible *OAC Wallace* ($F_{(3,22)}=4,104$; $p=0,019$) que sur les autres cultivars (Figure 3.4 c). Lorsqu'on rapporte le nombre de jeunes produits sur la longévité, on se rend compte que le cultivar n'influence pas réellement la fécondité quotidienne du PS ($F_{(3,20)}=0,564$, d.d.l.=23, $p=0,645$) (Figure 3.4d).

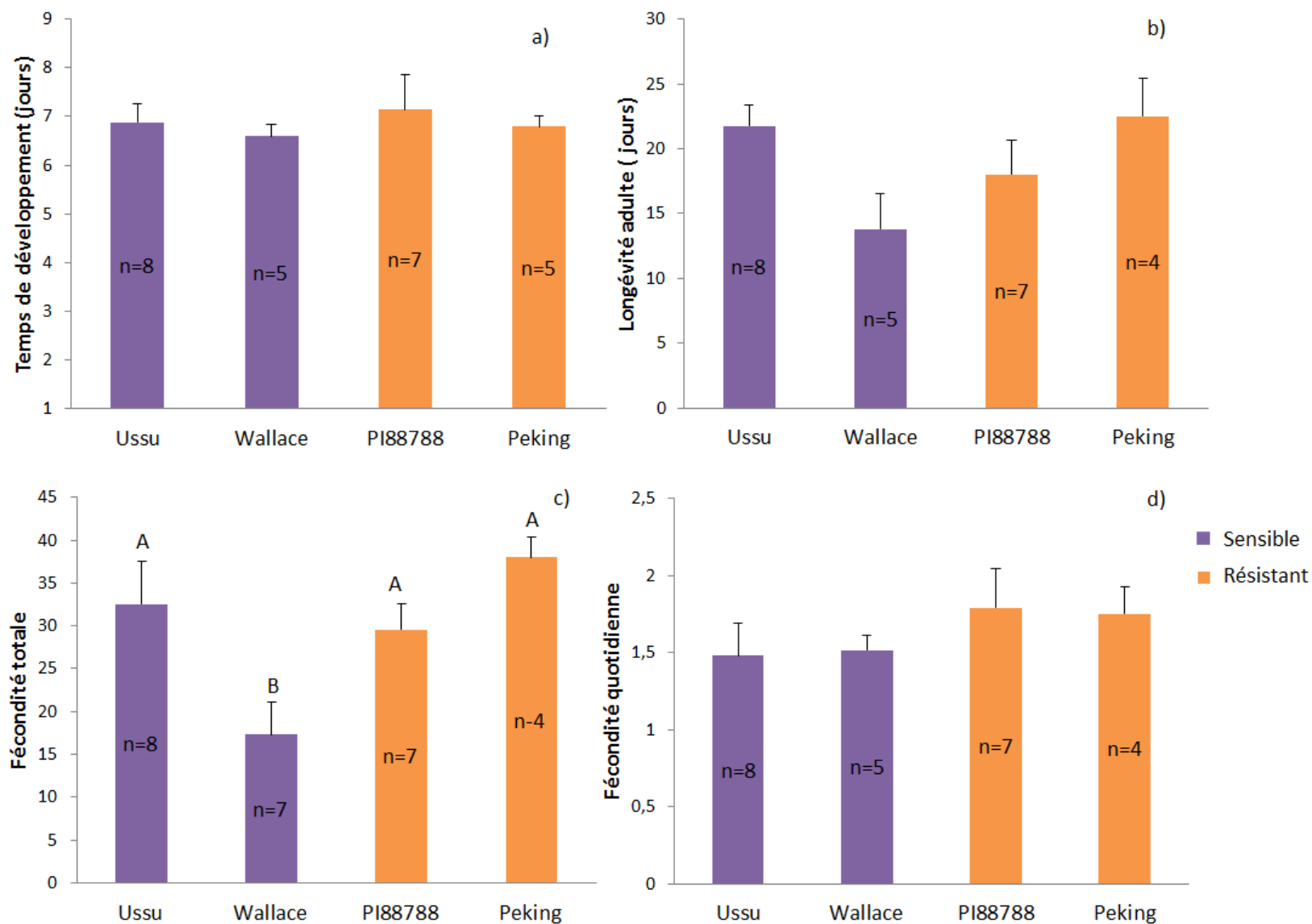


Figure 3.4: Impact des cultivars sensibles (en violet) ou résistants (en orange) sur les traits d’histoire de vie du puceron du soya en présence du nématode à kyste du soya : a) Temps de développement; b) Longévité; c) Fécondité totale; d) Fécondité quotidienne. Les barres verticales représentent l’erreur-type.

Interaction NKS x PS sur cultivars résistants et changements climatiques

L'effet de l'augmentation de la concentration du CO₂ atmosphérique sur les traits d'histoire de vie du PS se développant sur des cultivars résistants au NKS incolués de NKS a été évalué. Chez le cultivar PI88788, on observe une mortalité élevée (87,5 %) des PS à 1000 ppm de CO₂. Bien que la différence de mortalité ne soit pas significative entre les différentes conditions climatiques ($t=3,4$, d.d.l =1, $p=0.085$), la taille de l'échantillon est trop réduite pour pouvoir analyser les résultats à 1000 ppm de CO₂. Cette condition n'est donc pas considérée lors de l'analyse du temps de développement, de la longévité et de la fécondité.

L'augmentation de CO₂ a diminué significativement le temps de développement du PS sur les cultivars résistants testés ($H=9,044$, d.d.l.= 25, $p=0,003$) (Figure 3.5 a). Le cultivar n'a pas eu d'effet seul ($H=0,726$, d.d.l.= 25, $p=0,394$) ou en interaction avec le CO₂ ($H=0,655$, d.d.l.=25, $p=0,418$) sur le temps de développement du PS.

Chez le cultivar PI88788, la longévité moyenne est passée de 18 à 16 jours lorsque les plants étaient exposés à des conditions élevées en CO₂. Sur le cultivar Peking, elle diminue de 22,5 à 17,3 jours. L'ANOVA a révélé que la longévité du PS n'était pas affectée significativement par le cultivar ($F_{(1,21)}=0,690$; $p=0,416$) ou la concentration de CO₂ ($F_{(1,21)}=2,122$, d.d.l.=24, $p=0,160$). Il n'y avait pas d'interaction entre le cultivar et les conditions climatiques sur la longévité du PS ($F_{(1,21)}=0,461$, d.d.l.=24, $p=0,504$) (Figure. 3.5 b).

En moyenne, le nombre de jeunes PS produits était significativement diminué de 30 % lorsque cultivé avec une concentration de CO₂ augmentée ($F_{(1,25)}=9,127$, d.d.l.=25, $p=0,006$). Cet effet est indépendant du cultivar ($F_{(1,25)}=1,194$, d.d.l.=25; $p=0,286$) (Figure 3.5c). La concentration de CO₂ n'influence plus la fécondité quotidienne ($H=1,498$, d.d.l.=24, $p=0,221$).

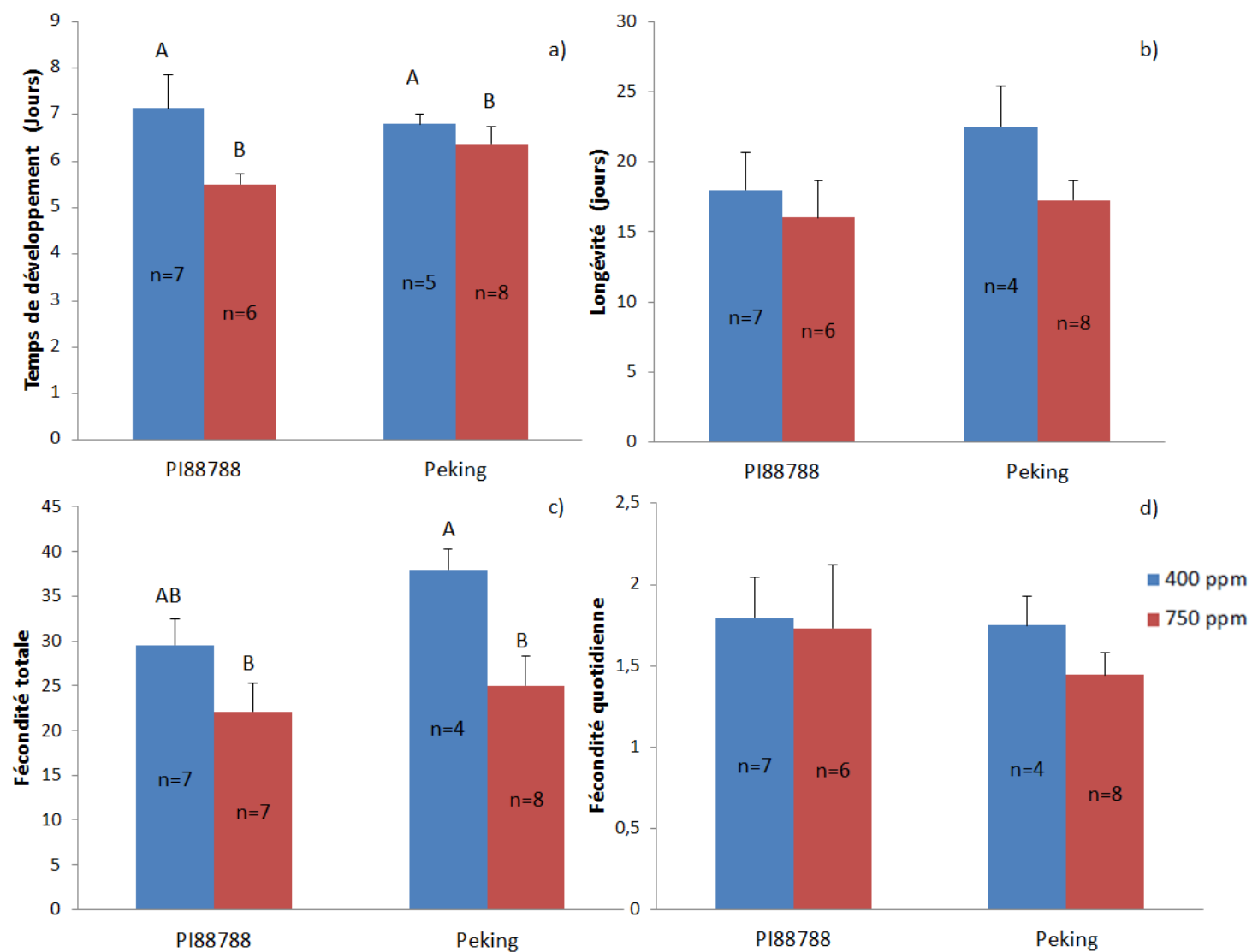


Figure 3.5 : Impact de la concentration de CO₂ atmosphérique sur les traits d’histoire de vie de puceron du soja sur cultivars résistants en présence du nématode à kyste du soja : a) Temps de développement; b) Longévité des adultes; c) Fécondité totale; d) Fécondité quotidienne. Les barres verticales représentent l’erreur-type. Les lettres différentes au-dessus des histogrammes représentent des valeurs significativement différentes suite à un test de Wilcoxon.

3.5 Discussion

En raison des politiques de confinement biologique en vigueur au CRD de Saint-Jean-sur-Richelieu, les cages contenant les pucerons devaient être déplacées avant de procéder à chaque observation. Cette manipulation fréquente du dispositif a probablement contribué à la perte de plusieurs individus et a considérablement réduit les effectifs. Le haut pourcentage de mortalité rencontré, bien qu'il ne soit pas hors norme (McCornack *et al.* 2004), sauf à 1000 ppm, a réduit davantage le nombre de pucerons pouvant être analysés. De plus, les pucerons utilisés dans les expériences de ce mémoire provenaient de deux élevages différents. Le biotype de chacun de ces élevages est inconnu et possiblement différent. La virulence et la performance d'un puceron est fortement influencé par son biotype puisque certains biotypes sont capable de contourner les gènes de résistance au PS du soya. L'interaction entre les biotypes du PS et les gènes de résistance au NKS est inconnu, mais augmentent possiblement variabilité de la survie et de la fécondité du PS sur les différents cultivars testés. En conséquence, il faut être prudent lors de l'interprétation de ces résultats qui sont basés sur l'observation d'un faible nombre d'individus.

Interaction NKS x PS sur cultivars sensibles

En général, l'arrivée du NKS en territoire québécois n'influencera pas de façon significative le temps de développement, la longévité ou la reproduction du puceron du soya sur les cultivars sensibles (Figure 3.3). Ces résultats concorde avec ceux obtenus par Hong *et al.* (2010) en laboratoire sur le cultivar *Williams*, également sensible au NKS. Cependant, on remarque quelques différences au niveau du temps de développement. Dans cet expérience, il était de 7,0 jours soit 1 à 2 jours de plus que Hong *et al.* (2010). Par contre, dans leur étude, les PS avaient une fécondité totale moyenne de 18 jeunes en absence du NKS et de 31,5 en présence du NKS. Ces résultats concordent avec les traits d'histoire de vie du PS mesurés sur le cultivar *Ussurijscaja 431*. Quant à la survie, elle est semblable dans les deux études sauf pour la survie en présence du NKS sur OAC Wallace qui est, en moyenne, écourtée de 10 jours ($p=0,07$). Cela s'explique sans doute par l'origine très différente de ces deux génotypes. Cette différence dans le niveau de sensibilité a d'ailleurs été observée chez plusieurs cultivars

ditions sensibles à un même ravageur (Bethke *et al.* 1998). Malgré le petit effectif, les résultats obtenus au cours de cette expérience sont du même ordre de grandeur que dans la littérature

Interaction NKS x PS sur cultivars résistants

Dès que le NKS est détecté dans les champs, l'utilisation des cultivars résistants est recommandée. Dans ce chapitre, nous avons démontré que l'impact de l'utilisation de ces cultivars et de la présence du NKS ne devrait pas influencer le développement et la longévité du PS (Figure 3.4). Le seul facteur au sein duquel on observe une différence significative entre les cultivars est le nombre total de jeunes produits par le PS. Cependant, la fécondité quotidienne n'est pas significativement influencée par le cultivar. Dans notre étude, le PS produisait significativement moins de descendants sur le cultivar *OAC Wallace* en présence du NKS. Étant donné qu'il n'y a pas de différence significative entre le nombre total de jeunes produits sur *Ussurijscaja 431* et les cultivars résistants, on ne peut conclure que la résistance au NKS favorise la reproduction du PS. Ces résultats sont corroborés par Heeren *et al.* (2012) qui n'ont pas détecté de différence significative entre les cultivars sensibles et résistants au NKS sur les populations de PS au long d'une saison de croissance. Les cultivars sur lesquels le PS n'est pas acclimaté semblent avoir un effet facilitateur pour le PS en présence du NKS. On remarque la même relation non significative quant à la longévité (Figure 3.4 b). Elle est plus longue sur les plants sur lesquels le puceron n'est pas familier. Parmi les cultivars sur lesquels la longévité est augmentée en présence de nématodes, ceux qui possèdent la résistance de type Peking offrent aussi la meilleure longévité et fécondité du PS. Cependant, la longévité du PS sur le cultivar sensible sur lequel le PS n'est pas acclimaté est aussi grande que celle sur les cultivars résistants. Même si les cultivars sensibles ne sont pas aptes à se défendre contre les nématodes, ces derniers peuvent exercer un stress considérable sur la plante. Il est possible que ce ne soit pas la capacité de la plante à lutter contre le NKS qui favorise la longévité du PS, mais plutôt le stress causé par ces derniers sur le métabolisme de la plante. Le nématode non détecté cause un stress nutritionnel et hydrique sur la plante qui réagira pour faire face à un stress abiotique.

Interaction NKS x PS sur cultivars résistants et changements climatiques

D'abord, le fort taux de mortalité du PS à 1000 ppm de CO₂ a empêché l'analyse des paramètres de traits d'histoire de vie. Étant donné que le substrat de croissance du soya était du sable pasteurisé supplémenté d'une faible dose d'engrais et que le CO₂ engendre une augmentation de la biomasse de la plante, il est probable que la plupart des PS aient subi une carence alimentaire fatale (Arnone *et al.* 1995, Coviella et Trumble 1999, Hunter 2001). Il est impossible de connaître avec certitude la cause du haut pourcentage de mortalité des PS puisque qu'aucune données de qualité de la plante n'a été mesurée au cours de cette expérience. Cependant, il a préalablement été démontré que la réaction des pucerons à l'augmentation de la concentration de CO₂ est difficilement prévisible (Newman *et al.* 2003) et qu'elle varie selon la relation plante-insecte étudiée (Hughes et Bazzaz 2001). De plus, la plupart des études sur l'impact du CO₂ sur la performance des insectes se limitent à une concentration maximale de 600 ppm ce qui est nettement inférieur au 1000 ppm de la présente expérience. Une autre étude serait nécessaire pour connaître la cause de la mortalité élevée, mais la carence alimentaire demeure, pour le moment, la cause la plus plausible.

Finalement, l'effet de l'augmentation de 400 à 750 ppm du CO₂ sur les traits d'histoire de vie du PS en présence du NKS a été évalué. En supposant que dans le futur, seuls des cultivars résistants seront utilisés dans les champs infestés, les analyses ont été effectuées avec les cultivars de type PI88788 et Peking. Les résultats démontrent qu'en condition de CO₂ augmenté, le temps de développement diminue. Cela pourrait s'expliquer par le fait que plus le CO₂ augmente, plus la plante développe une biomasse imposante et est en mesure de faire plus de photosynthèse si l'azote n'est pas un élément limitant. Cette carence en azote limite la synthèse de la Rubisco, une enzyme essentielle à la photosynthèse causant par le fait même une diminution de la qualité nutritionnelle de la sève élaborée (Zhao *et al.* 2005). L'augmentation de la concentration de CO₂ atmosphérique renforce la voie de défense de la SA qui est inefficace contre les pucerons tout en bloquant partiellement la voie de la JA et de l'ET chez les légumineuses (Casteel *et al.* 2012, Guo *et al.* 2014). Chez le PS, les taux de croissance et de reproduction augmentent en réponse à la hausse de concentration de CO₂

atmosphérique entre 600 et 700 ppm, ce qui a pour résultat d'augmenter significativement le nombre d'individus par plant (Dermody *et al.* 2008, O'Neill *et al.* 2011).

La fécondité totale du PS est négativement influencée par la concentration de CO₂ et non par le cultivar. Lorsque la concentration de CO₂ atmosphérique augmente, le nombre total de jeunes produits par puceron diminue significativement. Cela pourrait s'expliquer par une dilution de l'azote dans les tissus de la plante plus la biomasse augmente (Curtis 1996, Hikosaka 2004, Sulieman *et al.* 2015). Il pourrait en résulter une diminution du taux de photosynthèse et, donc, des sucres dans les tissus végétaux (Hikosaka 2004). Puisque la période reproductive est la plus exigeante du point de vue énergétique pour le puceron (Llewellyn et Qureshi 1978), il est probable que son succès reproducteur soit moins élevé en conditions de CO₂ augmenté étant donné la qualité diminuée de son hôte (Awmack et Leather 2002). Cependant, il est impossible de confirmer ces résultats avec la fécondité quotidienne. Puisque la longévité du puceron s'avère fortement corrélée avec sa fécondité, le ratio entre ces deux variables n'est plus significatif.

3.6 Conclusion

L'arrivée du NKS et l'utilisation de cultivars résistants ne devraient pas avoir d'effet sur le nombre de jeunes produits par un PS au cours de sa vie dans les conditions climatiques actuelles. L'augmentation de la concentration de CO₂ devrait diminuer le temps de développement et la fécondité totale du PS en présence du NKS. Cependant, il est difficile de différencier l'effet des gènes de résistance au NKS du stress causé par ces derniers sur les traits d'histoire de vie du puceron avec des observations dans un dispositif expérimental vivant. C'est pourquoi, dans le chapitre suivant, la réaction métabolique de la plante chez le cultivar sensible *Ussurijscaja 431* et un résistant de type PI88788 sera étudiée plus en détail à l'aide d'outils moléculaires.

Chapitre 4 : Qualification et quantification de la réponse systémique de la plante suite à l'infestation par le nématode à kyste du soya

4.1 Résumé

Lorsqu'elles sont affectées par un organisme nuisible, les plantes activent des voies métaboliques de défenses qui envoient un signal transmis aux tissus éloignés. Cette habileté, appelée « amorçage de la défense », permet à la plante de se défendre plus efficacement lors d'attaques subséquentes. En théorie, les ravageurs racinaires comme le nématode à kyste du soya (NKS) ont le potentiel d'affecter les ravageurs foliaires plus durement que l'inverse puisque la plante déploiera plus d'effort pour protéger ses tissus foliaires que ses racines. La réaction de défense foliaire de deux cultivars de soya, un sensible et un résistant au NKS, a été analysée par séquençage de l'ARN à différents moments suite à l'inoculation du nématode. Quatorze jours après l'inoculation, la présence du NKS dans les racines influençait plus le transcriptome que la différence de génotype (cultivar résistant vs sensible). À ce stade, 36 gènes étaient différentiellement surexprimés en présence du NKS et se répartissaient en trois groupes fonctionnels. Le plus important contenait 23 gènes impliqués dans l'activation, la synthèse ou le transport de l'acide salicylique. Les autres groupes étaient impliqués dans le stress oxydatif et dans la modification des parois cellulaires.

4.2 Introduction

Les nématodes causant le plus de dommages aux plantes sont les endoparasites sédentaires. Ce type de parasitisme est considéré comme biotrophe puisque les nématodes ne causent pas la mort des cellules (Lewis 1973). Cette relation parasitaire des plus évoluées implique des mécanismes très élaborés de manipulation de l'hôte par le parasite. En effet, les nématodes doivent déjouer le système immunitaire de la plante afin d'éviter d'être détectés tout en modulant significativement l'expression des gènes de l'hôte pour créer leur site de nutrition. Dans la plupart des cas, au fil du parasitisme, les plantes détectent la présence des

nématodes (Goverse et Smant 2014), ce qui entraîne l'activation des voies de défense. Cette reconnaissance du parasite mènera à une réponse locale ou systémique dépendamment du moment de la détection lors du processus infectieux et de l'ampleur de l'infestation. L'immunité déclenchée par les motifs moléculaires (« Pattern triggered immunity ») (PTI) et l'immunité déclenchée par les effecteurs (« Effector triggered immunity ») (ETI) engendreront une réaction de défense dans les tissus infestés, mais aussi dans les tissus distants du site d'infection de la plante via une réponse systémique. Katagiri et Tsuda (2010) ont proposé un modèle décrivant les voies métaboliques des trois hormones impliquées dans ces types de réponse soit l'acide jasmonique (JA), l'acide salicylique (SA) et l'éthylène (ET). Elles sont d'abord faiblement activées dans les tissus suite à l'infection par le pathogène. Cette amorce de la défense de la plante permet d'éviter les fausses alertes et de stimuler plus fortement la bonne voie de défense en réponse au pathogène (Katagiri et Tsuda 2010).

Il est connu que les pucerons sont sensibles à la JA, la SA, l'ET et l'acide abscissique (ABA) impliqués dans la réponse systémique (Thompson et Goggin 2006, Smith et Boyko 2007). Il a précédemment été démontré qu'une augmentation expérimentale de la concentration de certaines phytohormones dans les tissus diminuait la sensibilité des plantes aux pucerons (Dong *et al.* 2004, Cooper et Goggin 2005, Boughton *et al.* 2006, Hodge *et al.* 2006, Gao *et al.* 2007). L'objectif de ce chapitre est de vérifier si l'infestation par le nématode à kyste du soya (NKS) cause une réaction de défense systémique et, par le fait même, de découvrir les voies métaboliques impliquées.

Ce chapitre examine l'évolution temporelle de la réaction de défense dans les feuilles de la plante suite à l'infestation par les nématodes en utilisant le séquençage de l'ARNm (RNA-Seq). Cette technique permet d'analyser les gènes qui sont exprimés à un moment précis dans la plante. La réponse de la plante à ce stress biotique a également été comparée entre un cultivar sensible et un cultivar résistant au NKS. De multiples études portant sur la réaction de défense des plantes face aux infections par les nématodes ont été réalisées dans le passé, mais la majorité de celles-ci s'intéressait aux effets sur le système racinaire et non sur la partie aérienne de la plante.

4.3 Matériel et méthodes

Matériel végétal

Dans le cadre de cette expérience, des plants de soya ont été cultivés en chambre de croissance comme décrit au chapitre 3 lors des tests de performance du puceron du soya (PS), mais uniquement dans les conditions de CO₂ actuelles (400 ppm). Les plants ont reçu une dose unique d'engrais, soit 5 ml d'une solution de 20-20-20 (N-P-K) à 4 g/L, deux semaines après la mise en « cone-tainers ». Un système de goutte-à-goutte irriguait les plants quatre fois par jour soit à 8 h, 12 h, 16 h et 20 h.

Plan d'expérience

Deux variétés de soya ont été utilisées pour cette expérience, soit un sensible au NKS (Sens ; Ussurijscaja 431; National Plant Germplasm System, USDA, USA) et un résistant au NKS (Res; HS09RYS12 (type PI88788); Dow AgroSciences Canada Inc., AB, Canada). Les plants ont été inoculés avec 5000 œufs de NKS issus de la population ON1 (Agriculture et Agroalimentaire Canada, Harrow, Ontario). L'inoculum a été préparé tel que décrit dans le chapitre précédent. Les plants ont été inoculés lorsque la deuxième feuille trifoliée était complètement déroulée (stade V2). Trois plants de chacun des traitements (*Sens* Inocule*, *Sens*Non-inocule*, *Res*Inocule*, *Res*Non-inocule*) ont été échantillonnés à chacune des trois périodes d'échantillonnage, soit 0, 7 et 14 jours post-inoculation (T0, T7, T14) pour un total de 12 échantillons par période d'échantillonnage. Le temps 0 servira de témoin auquel on comparera les niveaux d'expression des gènes à T7 et T14 des cultivars respectifs. Après sept jours, le plant résistant a normalement détecté la présence du NKS et le combat activement (Klink *et al.* 2010), c'est pourquoi le T7 a été choisi. Le troisième point d'échantillonnage a été fixé à T14 pour analyser le transcriptome foliaire une fois que la réaction racinaire locale est complétée (Klink *et al.* 2010) pour laisser place à la réaction systémique. L'échantillonnage a toujours été réalisé vers 13 h afin de limiter le biais lié à la luminosité sur le transcriptome (Jiao *et al.* 2007). Lors de l'échantillonnage, six folioles par plant ont été récoltées aléatoirement et placées dans un seul tube de 50 ml. Ces tubes ont été immédiatement plongés dans l'azote liquide et entreposés à -80 °C jusqu'au moment de

l'extraction d'ARN. Chaque plant n'a été échantillonné qu'une seule fois au cours de l'expérience pour éviter un biais causé par une réaction de défense résiduelle issue du prélèvement des feuilles lors d'un échantillonnage précédent.

Séquençage de l'ARN (RNA-Seq)

Les échantillons contenant six feuilles congelées ont été broyés dans un mortier rempli d'azote liquide à l'aide d'un pilon. Les extractions d'ARN ont été effectuées à partir de 100 mg de poudre de tissu végétal avec la trousse RNeasy Plant Mini Kit de Qiagen (Qiagen, CA, USA) en suivant les recommandations du fabricant. La concentration en ARN total ainsi que la qualité de chacun des extraits ont été évaluées à l'aide du Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, CA, USA) en utilisant le kit RNA 6000 Nano. L'échantillon ayant le meilleur RIN (RNA integrity number) pour chacun des traitements a été sélectionné et préparé pour le séquençage pour un total de 10 échantillons à séquencer. La préparation des librairies et le séquençage ont été faits au Centre d'innovation Génome Québec à l'Université McGill (Montréal, Qc, Canada) en utilisant le protocole KAPPA/NEB stranded mRNA (New England Bio Labs, MA, USA) pour les librairies et la plateforme HiSeq 2500 V4 (Illumina, CA, USA) pour le séquençage. Les échantillons sélectionnés ont été multiplexés et séquencés sur une seule *lane* pour obtenir des séquences paires de 125pb (paired-end).

Analyses bioinformatiques et statistiques

Les séquences de mauvaise qualité de même que les codes à barres ont été éliminés avec le programme Trimmomatic (Bolger *et al.* 2014) en utilisant les paramètres par défaut du logiciel. Les séquences de bonne qualité ont été alignées sur le génome de référence du soya (Glyma V1.0.32) à l'aide de TopHat (Trapnell *et al.* 2009) avec les paramètres par défaut pour assembler le transcriptome de chacun des échantillons. Ensuite, l'estimation de l'abondance de chacun des gènes a été faite avec le logiciel HTseq-count (Anders *et al.* 2015) avec le mode « intersection-non-empty » pour générer la matrice des comptes de chacun des gènes répertoriés dans chacun des échantillons. Finalement, l'analyse des gènes différentiellement exprimés a été faite dans le logiciel R 3.4.0 (CRAN R-Project) à l'aide des packages DESeq2 (Love *et al.* 2014), DESeq (Anders et Huber 2012) et edgeR (Robinson *et al.* 2010). Le seuil

de significativité a été fixé à $p < 0,05$. Seuls les gènes exprimés reconnus comme étant significativement différents entre les traitements par les trois logiciels ont été conservés pour les analyses ultérieures.

4.4 Résultats

L'impact de l'infestation du NKS (dans les racines) sur l'expression génique dans les feuilles de soya a été évalué chez un cultivar de soya résistant au NKS et un sensible. Pour chacun des échantillons infestés, un échantillon non inoculé a été prélevé pour comparaison permettant ainsi d'isoler l'impact du NKS sur le transcriptome de chaque cultivar de soya à différents temps (T7 et T14). Un échantillon au temps zéro (T0) a été prélevé pour chacun des cultivars et tous les échantillons ont été comparé à l'échantillon du cultivar correspondant. Plusieurs millions de séquences ont été générées pour chacun des 10 échantillons analysés (Tableau 4.1). Sur les 270 millions de séquences obtenues, 12% ne s'alignaient pas sur le génome de référence du soya. Parmi ces séquences, 80% appartiennent tout de même au soya. Le cyamopse à quatre ailes (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.), une plante de la même famille que le soya représente 10% des séquences non-alignées. Les autres séquences appartiennent à des bactéries de la phyllosphère de la plante ainsi qu'à des bactériophages comme le coliphage phi-X174 qui a été identifié dans 2,3% des séquences non-alignées.

Tableau 4.1 : Résumé des séquences obtenues pour chacun des échantillons.

Librairie (échantillon)	Nombre de séquences brutes (pairees)	Séquences (%) s'alignant sur le génome	Séquences (%) ne s'alignant pas sur le génome	Alignement multiple (%)
Res Non-Inocule T0	21 939 608	88,55	11,45	5,48
Res. Non-Inocule T7	22 429 416	88,00	12,00	5,83
Res. Non-Inocule T14	24 253 772	87,90	12,10	5,80
Res. Inocule T7	28 824 348	88,25	11,75	5,43
Res. Inocule T14	26 945 124	87,71	12,29	6,47
Sen. Non-Inocule T0	24 589 140	88,14	11,86	6,53
Sen. Non-Inocule T7	28 499 812	86,85	13,15	6,79
Sen. Non-Inocule T14	35 974 014	87,81	12,19	6,66
Sen. Inocule T7	30 434 704	87,95	12,05	5,94
Sen. Inocule T14	25 693 884	87,60	12,40	6,11
TOTAL	269 583 822			

MOYENNE (%)	87,85	12,15	6,08
<p>L'analyse de contrastes de l'expression différentielle a révélé 7814 gènes significativement différentiellement exprimés dans l'une ou l'autre de l'ensemble des comparaisons possibles entre les traitements (temps, cultivars et inoculation). La comparaison des profils d'expression de ces gènes a démontré que le temps post-infection était le facteur principal modulant leur expression (Figure 4.1). À T7, les profils différaient surtout selon le cultivar et indépendamment de l'infection par le NKS. À l'inverse, à T14, la présence du nématode dans les racines influençait l'expression des gènes, et ce, peu importe le cultivar de soya.</p>			

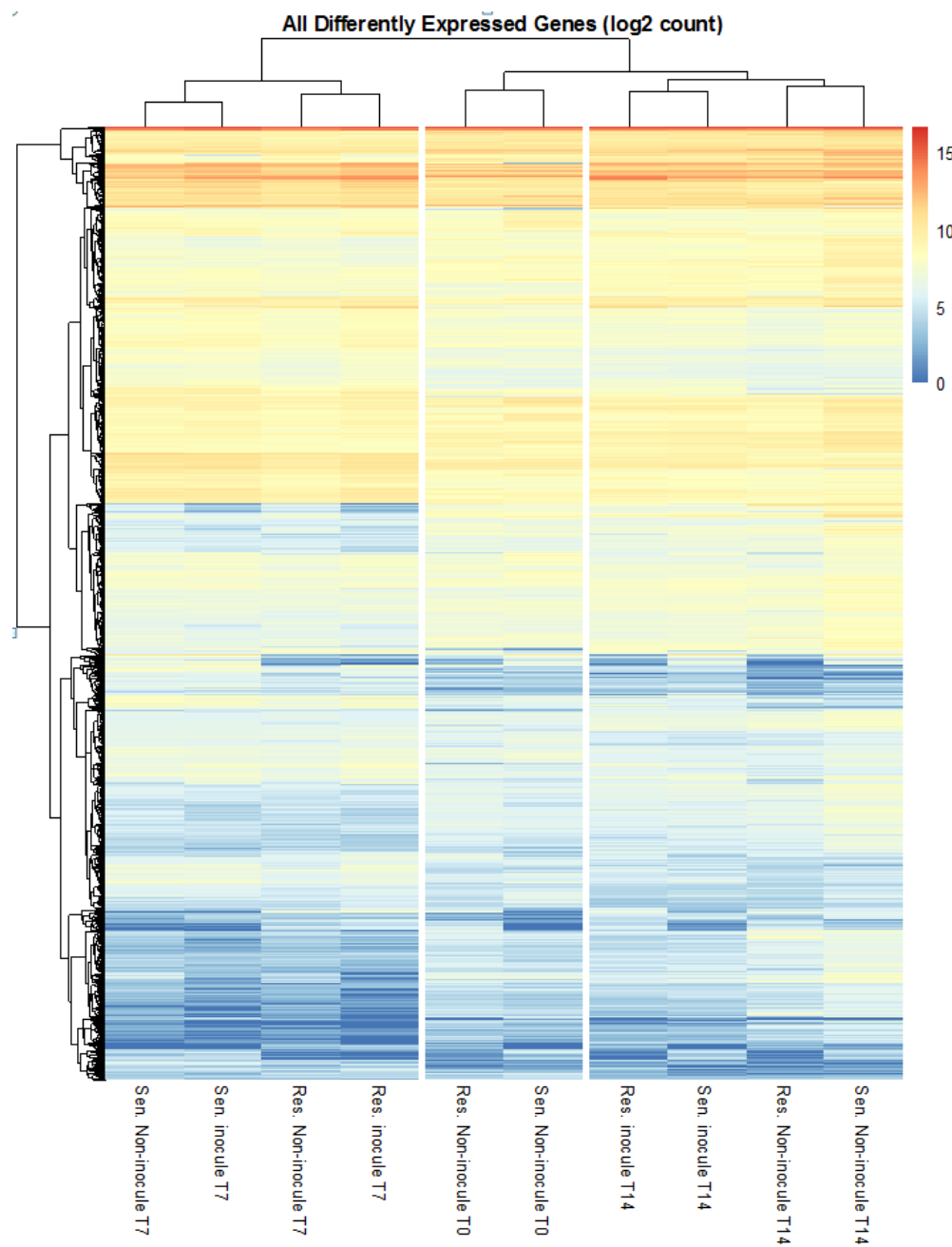


Figure 4.1: Niveaux d'expression foliaire des gènes de soya différemment exprimés ($n = 7814$) entre un cultivar résistant (*Res.*) ou sensible (*Sen.*) avant l'inoculation avec le nématode à kyste du soya (T0), 7 jours (T7) ou 14 jours (T14) suite à l'inoculation (*inocule*) ou chez un témoin non-inoculé (*Non-inocule*). La formation des groupes a été réalisée à partir de la distance euclidienne.

L'analyse de contrastes entre les échantillons inoculés ou non a révélé 36 gènes qui répondaient significativement à la présence de nématodes sur les racines ($p\text{-value} < 0,001$;

Tableau. 4.2). Une dizaine de ces gènes étaient surexprimés suite à l'infection alors que les autres conservaient le même niveau d'expression en présence de nématodes, mais étaient réprimés dans les témoins non inoculés à T7 ou T14 (Figure 4.2). Parmi ces gènes, 23 avaient pour fonction le transport, l'activation ou la synthèse de la SA, trois étaient impliqués dans le stress oxydatif et six dans la modification des parois cellulaires.

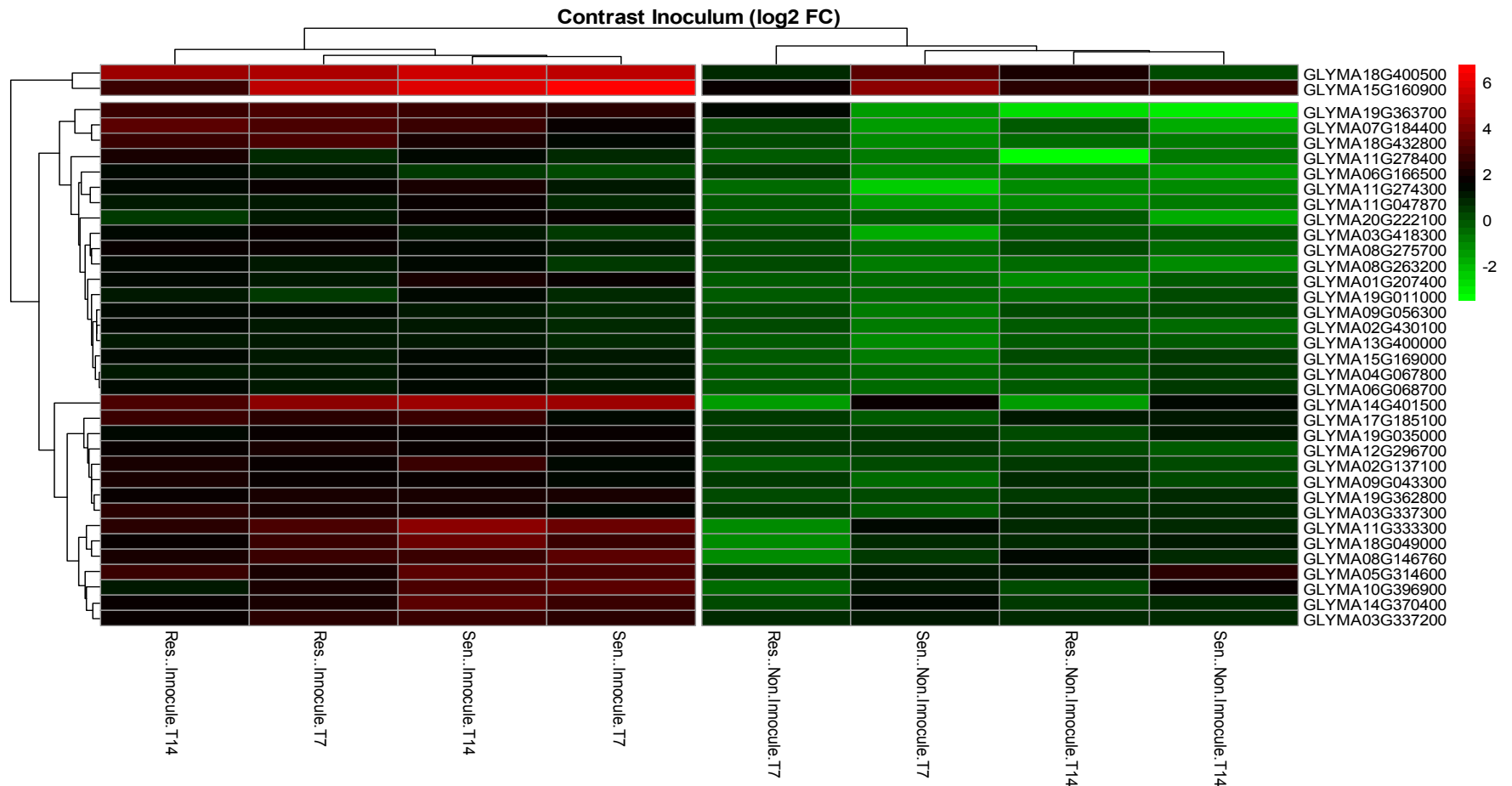


Figure 4.2 : Niveaux d’expression foliaire des gènes différentiellement exprimés (n = 36) en présence de nématodes sur les racines d’un cultivar de soya résistant (Res.) ou sensible (Sen.) après 7 jours (T7) ou 14 jours (T14) suite à l’infestation (Inocule) ou chez le témoin non-inoculé (Non.Inocule). Le niveau d’expression a été calculé par rapport au temps 0 pour chaque cultivar. Seuls les résultats significatifs suivant l’analyse de contrastes sont présentés. La formation des groupes a été réalisée à partir de la distance euclidienne.

Tableau 4.2 : Identification des gènes différentiellement exprimés en présence de nématodes.

Groupe ¹	Nom du gène	Annotation ²	S/ R ³	Expression (log_FC) ⁴
Stress oxydatif	GLYMA18G400500	Laccase	S	3,580
	GLYMA14G401500	Peroxidase	S	3,562
	GLYMA14G370400	Laccase	S	1,993
Modification de la paroi	GLYMA07G184400	Expressed protein	R	3,395
	GLYMA18G432800	Expressed protein	R	2,977
	GLYMA08G146760	Glucan 1,3-beta-glucosidase	S	2,512
	GLYMA09G043300	Endochitinase	S/R	1,742
	GLYMA05G314600	Glucan 1,3-beta-glucosidase	S	1,722
	GLYMA20G222100	Pectin acetylerase	S	1,643
Activation, synthèse ou transport d'acide salicylique ou de molécules de défense	GLYMA15G160900	Multidrug resistance pump	S	3,015
	GLYMA11G274300	Protein CHUP1	S/R	2,404
	GLYMA11G278400	Protein CHUP1	S/R	2,339
	GLYMA19G011000	Kinesin light chain-like protein	S/R	1,296
	GLYMA19G363700	MLO-like protein	R	2,331
	GLYMA02G137100	DNA-3-methyladenine glycosylase	S	2,088
	GLYMA01G207400	DNA-3-methyladenine glycosylase	S/R	2,063
	GLYMA08G263200	DNA-3-methyladenine Glycosylase	R	1,724
	GLYMA08G275700	Phytochelatine synthetase-like protein	S/R	1,787
	GLYMA10G396900	GPI-anchored protein, putative	S	1,951
	GLYMA04G067800	Cellulose synthase	S/R	1,628
	GLYMA06G068700	Cellulose synthase	S/R	1,540
	GLYMA15G169000	Cellulose synthase	S	1,524
	GLYMA09G056300	Cellulose synthase	R	1,463
	GLYMA19G035000	UDP-glucose 6-dehydrogenase	S/R	1,338
	GLYMA17G185100	Nucleic acid binding protein	R	2,120

Tableau 4.2 (suite) : Identification des gènes différentiellement exprimés en présence de nématodes

Groupe	Nom du gène	Annotation	S/R	Mean_log_FC
Activation, synthèse ou transport d'acide salicylique	GLYMA19G362800	Beta-3-glucuronyltransferase	S/R	1,816
	GLYMA11G047870	Transcription factor, putative	S	1,744
	GLYMA03G337300	Fasciclin-like arabinogalactan protein	R	1,744
	GLYMA12G296700	Fasciclin-like arabinogalactan protein	R	1,630
	GLYMA03G337200	Fasciclin-like arabinogalactan protein	S	1,581
	GLYMA02G430100	Trichome Birefringence-Like 32	R	1,496
	GLYMA06G166500	Aspartic proteinase nepenthesin-1	R	1,260
Autres	GLYMA11G333300	Microtubule-associated protein	S	2,995
	GLYMA18G049000	Microtubule-associated protein	S	2,636
	GLYMA03G418300	Dopamine beta-monooxygenase	R	1,718
	GLYMA13G400000	Membrane protein	S/R	1,385

¹ Les groupes sont formés par fonction

² Nom de la protéine provenant d'un Blast sur la NCBI

³ Cultivar sur lequel le gène est le plus fortement exprimé Sensible (S), Résistant (R) ou les deux (S/R)

⁴ Log en base 2 de la moyenne de l'accroissement du niveau d'expression

4.5 Discussion

La présente expérience a permis de confirmer que la réaction de défense de la plante face au NKS se transpose dans les feuilles. Suite à l'analyse des résultats, plusieurs gènes impliqués dans la défense de la plante ont été mis en évidence et ont le potentiel d'influencer le PS. Contrairement aux prédictions, le cultivar sensible semble avoir de façon générale, une plus forte expression des gènes de défense en présence du NKS que le cultivar résistant (Figure 4.2).

La modulation de l'expression génique permet à la plante de compléter plusieurs stades de développement très différents de la germination à l'atteinte de la maturité (Jones et Vodkin 2013). Dans notre étude, les différents temps de prélèvement ont formé les groupes primaires lors de l'analyse de la formation des groupes (*clustering*) du nombre de séquences obtenues pour chacun des gènes, et ce, indépendamment du cultivar ou de la présence du NKS sur les racines (Figure 4.1)

Par contre, pour un même stade phénologique, différents portraits ont été observés selon les traitements. Sept jours après la date d'inoculation (T7), le cultivar avait un plus grand impact que la présence du NKS sur la formation des groupes. À ce stade, le nématode a pénétré la racine et créé son site de nutrition (Klink *et al.* 2010) et les deux cultivars subissent le stress physiologique causé par le détournement de leurs ressources vers le syncytium de NKS. Il a été démontré que la plante sensible détecte l'entrée du nématode dans la racine, mais que la réaction de défense perd de l'ampleur lorsque le site de nutrition est établi (Alkharouf *et al.* 2006) alors que le plant résistant active d'autres voies de défense. Cette détection primaire serait due à la migration intracellulaire des nématodes à kyste pour atteindre leur site de nutrition. Ces derniers perforent des cellules sur leur passage et déclenchent une réaction immunitaire due aux dommages physiques infligés à la plante (DTI) (Wyss et Grundle 1992).

La réponse systémique (SAR) n'a pas été détectée dans les feuilles à T7. Ce type de réponse a habituellement comme fonction de préparer les structures éloignées de la plante à une infection subséquente par le pathogène (Conrath *et al.* 2002, Conrath *et al.* 2006, Kaplan *et al.* 2008, Jung *et al.* 2009). La SAR est souvent exprimée lorsque la menace originale est

sous contrôle ou en voie de l'être (Ward *et al.* 1991, Cao *et al.* 1994, Ryals *et al.* 1996). Puisqu'à ce moment la réaction hypersensible n'est pas complétée et que les deux cultivars subissent le NKS de la même façon au niveau physiologique, il est plausible que la présence du NKS ne soit pas le facteur prédominant dans la formation des groupes basés sur les profils d'expression à T7 (Figure 4.1). Parmi les différences dans les patrons d'expression des gènes à T7 entre les deux cultivars (Figures 4.1 et 4.2), on remarque que l'un des gènes plus surexprimés chez le cultivar résistant, mais faiblement surexprimé chez le sensible est GLYMA19G363700. Ce gène code pour les protéines transmembranaires Mlo (Oïdium locus o). Ces protéines, d'abord connues pour la régulation négative de la résistance à l'oïdium aussi appelé « blanc », ont toutefois d'autres fonctions au niveau du développement de la plante et de la réponse aux stress biotiques et abiotiques (Deshmukh *et al.* 2014). Par exemple, elles sont impliquées dans la mort programmée des cellules lors d'une réponse hypersensible (Peterhansel *et al.* 1997). Chez les plantes, la majorité de ces protéines possède des répétitions riches en leucine « leucine-rich repeat » qui sont impliquées dans la reconnaissance de certaines protéines d'un pathogène (Kobe et Kajava 2001, Ng et Xavier 2011).

Quatorze jours après l'inoculation (T14), les groupes se forment en fonction de la présence du NKS, indiquant qu'une réaction métabolique créée par l'infestation au NKS est d'assez grande envergure pour surpasser l'influence du cultivar lors de la formation des groupes (Figure 4.1). À ce stade, le NKS est bien installé dans le plant sensible et exploite les ressources de la plante. Il cause alors un stress nutritionnel important à la plante si le nombre de nématodes dans les racines est assez élevé. Chez le plant résistant, la réaction hypersensible dans les racines se termine autour de neuf jours après l'inoculation et les nématodes sont éliminés (Klink *et al.* 2010). La plante prépare ses tissus sains à une possible nouvelle infestation par le NKS. Comme la réaction de défense des plantes se transmet à égale intensité de la racine vers la tige (Kaplan *et al.* 2008), on devrait retrouver des gènes de défense surexprimés dans les feuilles suite à une attaque par le NKS. Cependant, au T14 on observe plutôt une surexpression des gènes de défense chez le plant sensible comparativement au plant résistant, suggérant que l'effet du stress physiologique de la plante est plus important que la réaction de défense contre le NKS.

Lors de l'analyse de contraste entre les plants inoculés et les plans non-inoculés, seulement 36 gènes sont significativement différentiellement exprimés. Cela représente 0,5% des 7814 gènes identifiés lors de l'analyse générale. Ce faible nombre s'explique par la nature des échantillons. En effet, les différents échantillons appartenaient à des plantes de cultivars ayant une généalogie différente et chacun des temps d'échantillonnage correspondait à un stade phénologique différent de la plante. Cela introduit une grande variabilité dans les données ce qui engendre une diminution de la capacité de détection des gènes différentiellement exprimés des outils informatiques utilisés. L'utilisation d'outils comme maSigPro (Conesa *et al.* 2006) aurait permis d'analyser les données en tenant compte des stades phénologiques différents, mais le nombre de réplicats dans la présente expérience ne permettait pas d'effectuer cette analyse. Néanmoins, les gènes identifiés demeurent intéressants.

Parmi les 36 gènes différentiellement exprimés entre les plants en contact ou non avec le NKS, tous s'avèrent plus exprimés en sa présence (Figure 4.2). Par rapport à T0, une douzaine de gènes étaient surexprimés en présence de nématodes. Pratiquement l'entièreté de ces gènes occupe des fonctions directement liées à des mécanismes de défense de la plante (Tableau 4.2). Trois des 36 gènes sont liés à une réaction de stress oxydatif dans les feuilles de la plante dont deux font partie des laccases, soit des protéines impliquées dans la lignification et la structuration de la paroi cellulaire (Ranocha *et al.* 2002). Le troisième gène de cette catégorie est une peroxydase et fait donc partie des dérivés actifs de l'oxygène (ROS) (Kawano et Muto 2000, Kawano 2003). Lors d'une réaction hypersensible, la concentration de ces composés ROS dans les tissus végétaux augmente drastiquement et active la synthèse des gènes de défenses. Les trois gènes de cette catégorie étaient plus exprimés chez le cultivar sensible que chez le résistant et une diminution du niveau d'expression a été observée à T14 chez le cultivar résistant, mais pas chez le sensible (Tableau 4.2). Cela indique que la réaction de défense a cessé quelque part entre les deux prélèvements de tissus chez le cultivar résistant alors que le stress demeure maintenu dans le temps chez le cultivar sensible.

Les deux tiers des gènes surexprimés dans les feuilles en présence de NKS étaient associés à l'activation, la synthèse ou le transport de l'acide salicylique (SA) ou d'autres molécules impliquées dans la réaction de défense de la plante. Parmi ceux-ci, le gène

GLYMA15G160900 de la famille des transporteurs MATE (extrusion de toxines et de plusieurs drogues) a pour fonction d'exporter la SA synthétisée dans les chloroplastes vers le cytosol (Nawrath *et al.* 2002). Ces transporteurs sont ~ 64 fois plus présents chez les plants infestés de NKS que chez les plants sains indiquant ainsi que la voie métabolique de la SA est stimulée. Cependant, ce gène est nettement surexprimé chez le cultivar sensible signifiant soit une détection du NKS ou encore un stress physiologique important (Cheong *et al.* 2002, Yang *et al.* 2004, Horváth *et al.* 2007). De façon générale, lorsque des protéines de ce type sont exprimées, le niveau de surexpression des gènes est maintenu plusieurs jours avant de lentement retourner à un niveau normal (Nawrath *et al.* 2002). C'est également ce que l'on observe dans les feuilles du cultivar résistant. En effet le niveau d'expression de ce gène par rapport au temps zéro passe de 42x (T7) à seulement 3x (T14) dans le cultivar résistant tandis qu'il demeure entre 100x (T7) et 50x (T14) dans le cultivar sensible.

Un facteur de transcription (GLYMA19G36280) était également fortement surexprimé en présence du NKS. Le produit de ce gène active la transcription de la voie métabolique de synthèse des flavonoïdes. Certains facteurs de transcription sont fortement associés à la réaction de défense des plantes. Ils permettent à la plante d'activer la transcription des gènes de réponses aux stress biotiques et abiotiques (Ambawat *et al.* 2013). Plusieurs protéines appartenant à la famille des facteurs de transcription MYB sont connues pour être impliquées dans ce genre de réponse (Liao *et al.* 2008). Par exemple, il a été démontré que la famille des facteurs de transcription de type R2R3-MYB était exprimée lors de réactions de défense impliquant la JA suite à une blessure ou une attaque par un herbivore (Cheong *et al.* 2002, Johnson et Dowd 2004). Précisément, le facteur de transcription surexprimé en présence du NKS dans la présente étude active la voie métabolique des flavonoïdes, ce qui corrobore la littérature existante sur le sujet (Hutangura *et al.* 1999, Soriano *et al.* 2004, Jones *et al.* 2007, Wasson *et al.* 2009).

Plusieurs gènes associés aux protéines arabinogalactanes (AGP) étaient aussi fortement surexprimés en présence du NKS dans le cultivar résistant. Ces protéines se retrouvent habituellement dans les parois des cellules végétales (Seifert et Roberts 2007) et sont, entre autres, impliquées dans la mort des cellules et lors des interactions racines-microorganismes (Gao et Showalter 1999, Nguema-Ona *et al.* 2013). Plusieurs études récentes ont démontré que

lors de l'attaque par un pathogène il y a une augmentation des AGPs au site d'infection (Gilson *et al.* 2001, Berry *et al.* 2002, Shailasree *et al.* 2004, Cannesan *et al.* 2012). Ces protéines sont aussi utilisées comme signal moléculaire soluble menant à l'activation des gènes des protéines reliées aux pathogènes (PR) qui font partie de la voie métabolique de la SA (Nguema-Ona *et al.* 2013, Rashid 2016). La présence de méthyljasmonate (MeJA) dans les tissus peut alors diminuer la transcription des AGPs (Liu et Mehdy 2007).

La protéinase aspartique nepenthesine fait partie des gènes identifiés comme surexprimés en présence du NKS. Il s'agit d'une protéine qui a d'abord été découverte comme enzyme digestive chez les plantes carnivores (Amagase 1972). Par la suite, elle a été identifiée comme molécule signal impliquée dans la résistance aux maladies (Xia *et al.* 2004). Cette protéine est fortement associée aux gènes de résistance codant pour des protéines contenant des répétitions riches en leucines et associées à la voie métabolique de la SA. Lorsqu'active, cette protéase libère des éliciteurs peptidiques endogènes qui déclenchent une réaction de défense SA-dépendante (Xia *et al.* 2004).

Près de 65 % des gènes surexprimés en présence du NKS interagissaient de près ou de loin avec la voie métabolique de la SA. Non seulement le NKS stimule les mécanismes de défense de la plante, mais les données indiquent clairement que c'est principalement la voie de la SA qui est exprimée. Cette réaction s'est transmise jusque dans la partie aérienne de la plante. Par contre, une réaction de défense a été observée autant dans les feuilles du cultivar résistant que du sensible. À T7, les plants avaient une réaction foliaire semblable indépendamment de la présence ou non du NKS dans leurs racines. C'est à T14 qu'une réelle différence entre les plants infectés ou non a été observée. Cependant, les différences observées sont difficilement attribuables avec certitude à la défense contre le NKS. En effet, puisque les gènes détectés ont aussi été surexprimés par le cultivar sensible, il est impossible de savoir si la réaction observée est issue d'une réaction de défense spécifique au NKS ou simplement à un stress physiologique causé par ce dernier. Pour attribuer les différences d'expression des gènes à la réaction spécifique au NKS, il faudrait poursuivre la recherche en utilisant plus d'une population de NKS et un autre type de pathogène non biotrophe.

De plus, des temps d'échantillonnage supplémentaires permettraient d'augmenter la résolution afin de mieux discriminer le moment où les gènes identifiés dans cette étude sont fortement exprimés ainsi que la durée de cette surexpression. Comme l'infection par le PS et le NKS n'est pas parfaitement synchrone, les gènes qui sont fortement exprimés pendant une longue période sont probablement ceux qui ont la plus grande probabilité d'influencer le PS sur la partie aérienne de la plante. Dans ce cas-ci, les gènes impliqués dans la voie métabolique de la SA semblent de bons candidats quant à la durée de leur expression. De plus, il est connu que la SA est stimulée par la présence du PS sur les plants, bien qu'elle n'ait pas d'effet significatif sur les populations (Selig *et al.* 2016).

4.5 Conclusion

Les résultats de l'analyse de séquençage démontrent que le NKS engendre une réaction de défenses systémique via la voie métabolique de l'acide salicylique dans la partie aérienne de la plante. L'accumulation de SA dans les tissus foliaires a le potentiel d'influencer le PS, malgré l'absence d'effet détecté sur les traits d'histoire de vie au chapitre 3. Cette influence pourrait se traduire par une modification de la préférence des adultes colonisateurs lors du choix printanier comme suggéré par Hong *et al.* (2010) et Hong *et al.* (2011). Elle pourrait aussi se traduire indirectement en ayant un effet sur les prédateurs ou les parasitoïdes qui utilisent les composés organiques volatiles (VOC) émis par la plante lorsqu'elle subit une attaque de ravageurs foliaires (Paré et Tumlinson 1999). La présence d'un ravageur racinaire qui engendre une réaction systémique pourrait attirer les ravageurs et les parasitoïdes avant même que le ravageur foliaire ne s'établisse sur la plante. De plus, une augmentation du CO₂ atmosphérique pourrait favoriser une plus grande expression des gènes liés à la SA dans les tissus pouvant ainsi modifier la relation entre des ravageurs physiquement éloignés sur un hôte commun (Sun *et al.* 2011). Les études subséquentes sur la réaction de défense foliaire des plantes face à un ravageur racinaire devraient tenir compte de l'impact de la concentration de CO₂ sur l'intensité de la réponse de la plante.

Chapitre 5 : Conclusion générale

5.1 Aspect fondamental

Il y a de plus en plus d'exemples dans la littérature qui démontrent des interactions entre des parasites racinaires et des ravageurs foliaires déterminées par le système de défense de la plante (Bezemer *et al.* 2003, Kaplan *et al.* 2008, Wubben *et al.* 2008). Par contre, aucune modification phénologique du PS n'a pu être reliée à la présence du NKS sur les racines dans le présent mémoire. Cela supporterait donc les études démontrant qu'il n'existe pas d'interaction indirecte détectable entre le NKS et le PS (Hong *et al.* 2010, Hong *et al.* 2011). Cependant, il est de mise de rappeler que le faible nombre de réplicats du chapitre 3 ne permet pas d'affirmer hors de tout doute que le PS n'est pas influencé par le NKS. Il a cependant été démontré dans le chapitre 4 que certains gènes impliqués dans la voie métabolique de la SA étaient surexprimés dans les feuilles suite à l'infestation du NKS dans les racines. Ces résultats appuient les conclusions d'une autre étude qui démontre que la modulation de la concentration de certaines phytohormones pourrait influencer les relations entre les nématodes à kystes et d'autres ravageurs foliaires dans d'autres systèmes biologiques (Hoysted *et al.* 2017).

Au Québec, le PS fait son entrée dans les champs en juillet (Brodeur *et al.* 2003), soit, environ 6 semaines après le semis. À ce moment, le NKS est déjà bien installé dans la racine (Gendron-St-Marseille 2013, Gendron-St-Marseille 2015). À ce moment, c'est la voie métabolique de la SA qui est initiée dans la plante. Les pucerons stimulent aussi la voie de la SA (Selig *et al.* 2016) ce qui inhibe la voie de la JA (Niki *et al.* 1998). Cette dernière est reconnue comme étant la plus efficace contre les insectes suceurs de phloème (Ellis *et al.* 2002, Zhu-Salzman *et al.* 2004). La pré activation de la voie de la SA, aurait donc pu avoir joué un rôle facilitateur pour les PS qui se retrouvent sur les plants infestés par le NKS dans la mesure où elle inhibe la voie de la JA qui a le potentiel d'être exprimée, sans nuire à la reproduction des pucerons (Moran et Thompson 2001, Ellis *et al.* 2002, Zhu-Salzman *et al.* 2004). Hoysted *et al.* (2017) ont aussi démontré que la voie métabolique de la SA est régulée positivement dans les feuilles de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) lors de l'infestation par le nématode à kyste pâle (*Globodera pallida*, Stone). Cette augmentation de la

concentration de SA dans les tissus de la plante facilite la reproduction du puceron vert du pêcher (*Myzus persicae* Sulzer). Cependant, cette interaction n'a pas été détectée entre le NKS et le PS (Hong *et al.* 2010, Hong *et al.* 2011). Cette différence est peut-être due au grand nombre de nématodes par plant lors de l'expérience de Hoysted *et al.* (2017). L'effet de l'interaction serait donc dépendant de la densité, ce qui a déjà été suggéré (Tylka 2016). Cependant, cette hypothèse reste à confirmer. Comme le NKS aura l'occasion de compléter plus d'un cycle de vie lors d'une saison de croissance (Gendron-St-Marseille 2013), les populations en début de saison et celle à la fin diffèrent énormément en densité et pourrait influencer l'interaction.

La stratégie alimentaire des nématodes semble également déterminer l'effet encouru sur les ravageurs foliaires (Biere et Goverse 2016). Par exemple, les nématodes endoparasites migrants comme les nématodes des lésions (*Pratylenchus*) semblent diminuer le fitness des pucerons (Van Dam *et al.* 2005, Wurst et van der Putten 2007). À l'inverse, les nématodes endoparasites sédentaires, comme les nématodes à kyste, n'auraient que peu d'effet sur les populations de ravageurs foliaires (Hong *et al.* 2010, Hong *et al.* 2011, Heeren *et al.* 2012, Hol *et al.* 2013). Comme son nom l'indique, le nématode des lésions cause de nombreuses lésions sur les racines, cela entraîne donc une forte réponse immunitaire de la plante qui mènera à la libération de JA dans les tissus éloignés. Cela nuirait donc au développement des pucerons. Comme les nématodes à kyste n'entraînent pas la mort des cellules, cet effet est quasi nul et de plus réprimé par la libération de SA.

Pour bien comprendre l'ampleur de la relation entre le NKS et le PS, il sera nécessaire de tester cette interaction avec plusieurs populations de NKS et de PS ayant des profils de virulence différents. Puisque les nématodes endoparasites sédentaires excellent dans l'art de passer inaperçus, une population virulente supprimera la réaction de défense chez la plante, permettant ainsi le maintien du syncytium et la complétion du cycle de vie (Gheysen et Fenoll 2002). Il est donc possible que l'on ne retrouve pas la même interaction avec une population virulente compte tenu de l'absence de l'amorçage de la voie de la SA. Cependant, les populations peu virulentes ou l'utilisation judicieuse des cultivars résistants pourrait générer une réaction de défense systémique et ainsi avoir un effet facilitateur pour les populations de

PS. De plus, comme le PS arrive annuellement des États-Unis, il est impossible de prévoir quels biotypes seront présents parmi les quatre déjà identifiés (Alt et Ryan-Mahmutagic 2013, Cooper *et al.* 2015). Dans le présent mémoire, le biotype des PS utilisés dans les expériences du chapitre 3 est inconnu. Certains biotypes du PS sont capables de contourner les gènes de résistance au puceron du soya (Kim *et al.* 2008). La virulence et la performance d'un puceron est donc fortement influencé par son biotype et possiblement un impact sur la relation PS-NKS. Les pucerons utilisés dans les expériences de ce mémoire provenaient de deux élevages différents. Il est donc possible que des individus de biotypes différents aient été utilisés dans les expériences du chapitre 3 augmentant alors la variabilité de la survie et de la fécondité du PS sur les différents cultivars testés.

Il est aussi possible que les différents biotypes du PS aient des performances et des préférences variables en présence du NKS, mais cette question demeure, pour l'instant, sans réponses. Cependant, il a déjà été démontré qu'un même gène peut conférer une résistance à plus d'un ravageur. Rossi *et al.* (1998) a démontré que le gène de résistance *Mi-1.2* confère une résistance au nématode *Meloidogyne incognita* ainsi qu'au puceron de la pomme de terre *Macrosiphum euphorbiae*. Le même gène serait aussi responsable de la résistance à l'aleurode du tabac *Bemisia tabaci* chez la tomate (Nombela *et al.* 2003). Il existe plus de sept sources de résistance au NKS et seulement les deux plus populaires ont été testées dans ce mémoire. De plus, il existe des centaines de combinaisons possibles de Hg type de NKS / biotype PS / cultivar résistant. Chacune de ces combinaisons est possiblement différemment affectée par l'augmentation de la concentration atmosphérique de CO₂. La relation entre le NKS et le PS est complexe et d'autres études seront nécessaires quant à la compréhension du système dans un contexte de changements climatiques.

5.2 Aspect appliqué

Certaines informations de ce mémoire peuvent être applicables immédiatement dans le milieu agricole. Dans un premier temps, le chapitre 3 a démontré que les cultivars résistants au NKS disponibles au Québec ne perdront pas leur résistance lorsque les concentrations de CO₂

augmenteront. De plus, il a aussi été démontré que les cultivars résistants ne semblent pas favoriser le puceron en présence ou non du NKS. Finalement, aucun effet du NKS sur le PS n'a été observé même si les plants sensibles et résistants réagissent à l'infestation. La gestion actuelle du PS ne devrait donc pas souffrir de l'arrivée du NKS en sol québécois. Cependant, des essais en champ demeurent essentiels pour s'assurer de l'absence d'effet sur une saison de croissance complète. Par exemple, certaines études montrent que les pucerons fondateurs, au printemps, semblent préférer les plants peu ou pas colonisés par les nématodes (Hong *et al.* 2010, Hong *et al.* 2011). Cela pourrait être dû à la présence de SA dans les feuilles des plants infestés à ce moment. Si la présence de SA influence le choix du PS, il est aussi possible que les insectes auxiliaires le soit aussi (Van der Putten *et al.* 2001, Rasmann et Turlings 2007, Hiltpold *et al.* 2011). Cependant, la science est encore aux premiers balbutiements de ce domaine difficile à étudier étant donnée la complexité des systèmes.

En résumé, la compréhension des interactions entre parasites partageant un hôte commun est nécessaire pour établir des stratégies de gestion des ravageurs efficaces. Les nouvelles espèces dans les agroécosystèmes peuvent altérer la démographie de celles déjà établies et en rendre le contrôle plus difficile. Cependant, dans le cas précis du NKS et du PS, les méthodes de gestion du PS devraient demeurer efficaces... jusqu'à l'arrivée du prochain ravageur important!

Bibliographie

- Adie, B., M. Perez-Perez, M. Godoy, J. Sanchez-Serrano, E. Schmelz, et R. Solano. 2007. *ABA is an essential signal for plant resistance to pathogens affecting JA biosynthesis and the activation of defenses in Arabidopsis*. The Plant Cell Online **19**:1665-1681.
- Agrios, G. N. 2005. *Plant diseases caused by nematodes*. Pages 825-874 Plant Pathology (Fifth Edition). Academic Press, San Diego.
- Ainsworth, E. A., P. A. Davey, C. J. Bernacchi, O. C. Dermody, E. A. Heaton, D. J. Moore, P. B. Morgan, S. L. Naidu, H. s. Yoo Ra, et X. g. Zhu. 2002. *A meta-analysis of elevated [CO₂] effects on soybean (Glycine max) physiology, growth and yield*. Global Change Biology **8**:695-709.
- Alkharouf, N. W., V. P. Klink, I. B. Chouikha, H. S. Beard, M. H. MacDonald, S. Meyer, H. T. Knap, R. Khan, et B. F. Matthews. 2006. *Timecourse microarray analyses reveal global changes in gene expression of susceptible Glycine max (soybean) roots during infection by Heterodera glycines (soybean cyst nematode)*. Planta **224**:838-852.
- Alleman, R. 2002. *The soybean aphid, Aphis glycines Matsumura, its host range and ability to transmit viruses*. M.Sc.Department of Entomology University of Wisconsin, Madison.
- Alston, D., et D. Schmitt. 1988. *Development of Heterodera glycines life stages as influenced by temperature*. Journal of Nematology **20**:366.
- Alt, J., et M. Ryan-Mahmutagic. 2013. Soybean aphid biotype 4 identified. Crop Science **53**:1491-1495.
- Amagase, S. 1972. *Digestive enzymes in insectivorous plants 3. Acid proteases in the genus Nepenthes and Drosera peltata*. The Journal of Biochemistry **72**:73-81.
- Ambawat, S., P. Sharma, N. R. Yadav, et R. C. Yadav. 2013. *MYB transcription factor genes as regulators for plant responses: an overview*. Physiology and Molecular Biology of Plants **19**:307-321.
- Anders, S., et W. Huber. 2012. *Differential expression of RNA-Seq data at the gene level—the DESeq package*. European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Heidelberg, Germany.
- Anders, S., P. T. Pyl, et W. Huber. 2015. *HTSeq—a Python framework to work with high-throughput sequencing data*. Bioinformatics **31**:166-169.
- Anderson, J. P., E. Badruzsaufari, P. M. Schenk, J. M. Manners, O. J. Desmond, C. Ehlert, D. J. Maclean, P. R. Ebert, et K. Kazan. 2004. *Antagonistic interaction between abscisic acid and jasmonate-ethylene signaling pathways modulates defense gene expression and disease resistance in Arabidopsis*. The Plant Cell **16**:3460-3479.
- Anderson, T., T. Welacky, H. Olechowski, G. Ablett, et B. Ebsary. 1988. *First report of Heterodera glycines on soybeans in Ontario, Canada*. Plant Disease (EUA) **72**:453.
- Apostol, I., P. F. Heinsteins, et P. S. Low. 1989. *Rapid stimulation of an oxidative burst during elicitation of cultured plant cells role in defense and signal transduction*. Plant physiology **90**:109-116.
- Arnone, J., J. Zaller, C. Körner, C. Ziegler, et H. Zandt. 1995. *Leaf quality and insect herbivory in model tropical plant communities after long-term exposure to elevated atmospheric CO₂*. Oecologia **104**:72-78.

- Awmack, C. S., et S. R. Leather. 2002. *Host plant quality and fecundity in herbivorous insects*. Annual review of entomology **47**:817-844.
- Ayres, E., D. H. Wall, B. L. Simmons, C. B. Field, D. G. Milchunas, J. A. Morgan, et J. Roy. 2008. *Belowground nematode herbivores are resistant to elevated atmospheric CO₂ concentrations in grassland ecosystems*. Soil Biology and Biochemistry **40**:978-985.
- Bale, J. S., G. J. Masters, I. D. Hodkinson, C. Awmack, T. M. Bezemer, V. K. Brown, J. Butterfield, A. Buse, J. C. Coulson, et J. Farrar. 2002. *Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores*. Global Change Biology **8**:1-16.
- Benhamou, N. 2009. *La résistance chez les plantes: principes de la stratégie défensive et applications agronomiques*, Paris.T. D.-. Lavoisier. 376 p.
- Bent, A. F., R. W. Innes, J. R. Ecker, et B. J. Staskawicz. 1992. Disease development in ethylene-insensitive *Arabidopsis thaliana* infected with virulent and avirulent *Pseudomonas* and *Xanthomonas* pathogens. Molecular Plant Microbe Interactions **5**:372-372.
- Berggren, Å., C. Björkman, H. Bylund, et M. P. Ayres. 2009. *The distribution and abundance of animal populations in a climate of uncertainty*. Oikos **118**:1121-1126.
- Berry, A. M., U. Rasmussen, K. Bateman, K. Huss-Danell, S. Lindwall, et B. Bergman. 2002. *Arabinogalactan proteins are expressed at the symbiotic interface in root nodules of *Alnus* spp.* New Phytologist **155**:469-479.
- Bezemer, T., G. De Deyn, T. Bossinga, N. Van Dam, J. Harvey, et W. Van der Putten. 2005. *Soil community composition drives aboveground plant-herbivore-parasitoid interactions*. Ecology Letters **8**:652-661.
- Bezemer, T., R. Wagensaar, N. Van Dam, et F. Wäckers. 2003. *Interactions between above-and belowground insect herbivores as mediated by the plant defense system*. Oikos **101**:555-562.
- Biere, A., et A. Goverse. 2016. *Plant-mediated systemic interactions between pathogens, parasitic nematodes, and herbivores above-and belowground*. Annual review of phytopathology **54**:499-527.
- Bohlmann, H., et M. Sobczak. 2014. *The plant cell wall in the feeding sites of cyst nematodes*. Frontiers in plant science **5**.
- Boland, G., M. Melzer, A. Hopkin, V. Higgins, et A. Nassuth. 2004. *Climate change and plant diseases in Ontario*. Canadian Journal of Plant Pathology **26**:335-350.
- Bolger, A. M., M. Lohse, et B. Usadel. 2014. *Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data*. Bioinformatics **30**:2114-2120.
- Boughton, A. J., K. Hoover, et G. W. Felton. 2006. *Impact of chemical elicitor applications on greenhouse tomato plants and population growth of the green peach aphid, *Myzus persicae**. Entomologia Experimentalis et Applicata **120**:175-188.
- Breault, J., B. Duval, P. Fillion, G. Labrie, F. Meloche, C. Parent, A. Rondeau, et M. Roy. 2009. *Stratégie d'intervention recommandée au Québec contre le puceron du soja en 2009*. Bulletin du RAP-Grandes Cultures **18**.
- Brodeur, J. 2013. *Lutte biologique au puceron du soja: le rôle des parasitoïdes*. Journée d'information scientifique - Grandes cultures. CRAAQ.
- Brodeur, J., et M. Roy. 2007. *Le puceron du soja: un hôte indésirable*. Grandes Cultures **17**:32-38.

- Brodeur, J., M. Roy, et M. Mignault. 2003. *Réseau de surveillance du puceron du soya*. Programme agroenvironnemental de soutien à la Stratégie phytosanitaire du Plan d'action Saint-Laurent Vision 2000:44.
- Brucker, E., S. Carlson, E. Wright, T. Niblack, et B. Diers. 2005. *Rhgl alleles from soybean PI 437654 and PI 88788 respond differentially to isolates of Heterodera glycines in the greenhouse*. Theoretical and Applied Genetics **111**:44-49.
- Brussaard, L. 1997. *Biodiversity and ecosystem functioning in soil*. Ambio **26**:563-570.
- Cannesan, M. A., C. Durand, C. Burel, C. Gangneux, P. Lerouge, T. Ishii, K. Laval, M.-L. Follet-Gueye, A. Driouich, et M. Vitré-Gibouin. 2012. *Effect of arabinogalactan proteins from the root caps of pea and Brassica napus on Aphanomyces euteiches zoospore chemotaxis and germination*. Plant physiology **159**:1658-1670.
- Cao, H., S. A. Bowling, A. S. Gordon, et X. Dong. 1994. *Characterization of an Arabidopsis mutant that is nonresponsive to inducers of systemic acquired resistance*. The Plant Cell **6**:1583-1592.
- Caplan, J., M. Padmanabhan, et S. P. Dinesh-Kumar. 2008. *Plant NB-LRR immune receptors: from recognition to transcriptional reprogramming*. Cell host & microbe **3**:126-135.
- Castagnone-Sereno, P. 2002. *Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes?* Euphytica **124**:193-199.
- Casteel, C. L., L. M. Segal, O. K. Niziolek, M. R. Berenbaum, et E. H. Delucia. 2012. *Elevated carbon dioxide increases salicylic acid in Glycine max*. Environmental Entomology **41**:1435-1442.
- Caswell, H., F. Reed, S. Stephenson, et P. A. Werner. 1973. *Photosynthetic pathways and selective herbivory: a hypothesis*. American Naturalist:465-480.
- Catangui, M. A., E. A. Beckendorf, et W. E. Riedell. 2009. *Soybean aphid population dynamics, soybean yield loss, and development of stage-specific economic injury levels* Agronomy Journal **101**:1080-1092.
- Chen, F., J. C. D'Auria, D. Tholl, J. R. Ross, J. Gershenzon, J. P. Noel, et E. Pichersky. 2003. *An Arabidopsis thaliana gene for methylsalicylate biosynthesis, identified by a biochemical genomics approach, has a role in defense*. The Plant Journal **36**:577-588.
- Cheong, Y. H., H.-S. Chang, R. Gupta, X. Wang, T. Zhu, et S. Luan. 2002. *Transcriptional profiling reveals novel interactions between wounding, pathogen, abiotic stress, and hormonal responses in Arabidopsis*. Plant physiology **129**:661-677.
- Clark, A., et K. Perry. 2002. *Transmissibility of field isolates of soybean viruses by Aphis glycines*. Plant Disease **86**:1219-1222.
- Colgrove, A., et T. Niblack. 2005. *The effect of resistant soybean on male and female development and adult sex ratios of Heterodera glycines*. Journal of Nematology **37**:161.
- Concibido, V. C., B. W. Diers, et P. R. Arelli. 2004. *A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean*. Crop Science **44**:1121-1131.
- Conesa, A., M. J. Nueda, A. Ferrer, et M. Talón. 2006. *maSigPro: a method to identify significantly differential expression profiles in time-course microarray experiments*. Bioinformatics **22**:1096-1102.
- Conrath, U., G. J. Beckers, V. Flors, P. García-Agustín, G. Jakab, F. Mauch, M.-A. Newman, C. M. Pieterse, B. Poinssot, et M. J. Pozo. 2006. *Priming: getting ready for battle*. Molecular Plant-Microbe Interactions **19**:1062-1071.

- Conrath, U., C. M. Pieterse, et B. Mauch-Mani. 2002. *Priming in plant-pathogen interactions*. Trends in plant science **7**:210-216.
- Cooper, S. G., V. Concibido, R. Estes, D. Hunt, G.-L. Jiang, C. Krupke, B. McCornack, R. Mian, M. O'Neal, et V. Poysa. 2015. Geographic distribution of soybean aphid biotypes in the United States and Canada during 2008–2010. Crop Science **55**:2598-2608.
- Cooper, W., et F. Goggin. 2005. *Effects of jasmonate-induced defenses in tomato on the potato aphid, Macrosiphum euphorbiae*. Entomologia Experimentalis et Applicata **115**:107-115.
- Cotton, W. R., et R. A. Pielke Sr. 2007. *Human impacts on weather and climate*. Cambridge University Press
- Coviella, C. E., et J. T. Trumble. 1999. *Effects of Elevated Atmospheric Carbon Dioxide on Insect-Plant Interactions*. Conservation Biology **13**:700-712.
- Crooks, J. A., M. E. Soulé, et O. Sandlund. 1999. *Lag times in population explosions of invasive species: causes and implications*. Pages 103-125 in O. Sandlund, P. Schei, et A. Viken, editors. Invasive species and biodiversity management. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Curtis, P. S. 1996. *A meta-analysis of leaf gas exchange and nitrogen in trees grown under elevated carbon dioxide*. Plant, Cell & Environment **19**:127-137.
- Davis, E. L., R. S. Hussey, et T. J. Baum. 2004. *Getting to the roots of parasitism by nematodes*. Trends in Parasitology **20**:134-141.
- Davis, J., et E. Radcliffe. 2008. *The importance of an invasive aphid species in vectoring a persistently transmitted potato virus: Aphis glycines is a vector of potato leafroll virus*. Plant Disease **92**:1515-1523.
- Dawkins, R. 2016. *The extended phenotype: The long reach of the gene*. Oxford University Press
- Debailleul, G., L. D. Tamini, M. Doyon, F. Clerson-Guicherd, L.-S. Jacques, M. Hernandez, M. Olar, et J. Louvel. 2013. *Analyse prospective de la position concurrentielle du Québec en matière de production agricole dans un contexte de changements climatiques*. Rapport final pour Ouranos.
- Dermody, O., B. F. O'Neill, A. R. Zangerl, M. R. Berenbaum, et E. H. DeLucia. 2008. *Effects of elevated CO₂ and O₃ on leaf damage and insect abundance in a soybean agroecosystem*. Arthropod-Plant Interactions **2**:125-135.
- Deshmukh, R., V. Singh, et B. Singh. 2014. *Comparative phylogenetic analysis of genome-wide Mlo gene family members from Glycine max and Arabidopsis thaliana*. Molecular genetics and genomics **289**:345-359.
- Dixon, A. F. G. 1998. *Aphid Ecology an optimization approach*. Second Edition edition. Springer Science & Business Media 299 p.
- Donaldson, J. R., et C. Gratton. 2007. *Antagonistic effects of soybean viruses on soybean aphid performance*. Environmental Entomology **36**:918-925.
- Dong, H.-P., J. Peng, Z. Bao, X. Meng, J. M. Bonasera, G. Chen, S. V. Beer, et H. Dong. 2004. *Downstream divergence of the ethylene signaling pathway for harpin-stimulated Arabidopsis growth and insect defense*. Plant physiology **136**:3628-3638.
- Du, L., G. S. Ali, K. A. Simons, J. Hou, T. Yang, A. S. N. Reddy, et B. W. Poovaiah. 2009. *Ca²⁺/calmodulin regulates salicylic-acid-mediated plant immunity*. Nature **457**:1154-1158.

- Ellis, C., I. Karafyllidis, et J. G. Turner. 2002. *Constitutive activation of jasmonate signaling in an Arabidopsis mutant correlates with enhanced resistance to Erysiphe cichoracearum, Pseudomonas syringae, and Myzus persicae*. Molecular Plant-Microbe Interactions **15**:1025-1030.
- Endo, B. Y. 1964. *Penetration and development of Heterodera glycines in soybean roots and related anatomical changes*. Phytopath **54**:79-88.
- Endo, B. Y. 1965. *Histological responses of resistant and susceptible soybean varieties, and brackcross progeny to entry and development of Heterodera glycines*. Phytopath **55**:375-381.
- Faghihi, J., et J. Ferris. 2000. *An efficient new device to release eggs from Heterodera glycines*. Journal of Nematology **32**:411.
- Fehr, W. R., C. E. Caviness, D. T. Burmood, et J. S. Pennington. 1971. *Stage of Development Descriptions for Soybeans, Glycine Max (L.) Merrill*. Crop Science **11**:929-931.
- Fenwick, D. 1940. *Methods for the recovery and counting of cysts of Heterodera schachtii from soil*. Journal of Helminthology **18**:155-172.
- Franco, J. 1979. *Effect of temperature on hatching and multiplication of potato cyst nematodes*. Nematologica **25**:237-244.
- Fu, Z. Q., et X. Dong. 2013. *Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense*. Annual Review of Plant Biology **64**:839-863.
- Gagnon, A.-È., G. Labrie, et J. Breault. 2015. *Amélioration d'un outil d'aide à la décision pour le contrôle du puceron du soya en intégrant la présence de champignons entomopathogènes. Volet 1: Inventaire des espèces de champignons CÉRO-1-13-1648*.
- Gao, L.-L., J. P. Anderson, J. P. Klingler, R. M. Nair, O. R. Edwards, et K. B. Singh. 2007. *Involvement of the octadecanoid pathway in bluegreen aphid resistance in Medicago truncatula*. Molecular Plant-Microbe Interactions **20**:82-93.
- Gao, M., et A. M. Showalter. 1999. *Yariv reagent treatment induces programmed cell death in Arabidopsis cell cultures and implicates arabinogalactan protein involvement*. The Plant Journal **19**:321-331.
- Gariepy, V. 2011. *Évaluation du potentiel des parasitoïdes Binodoxys communis, Aphidius colemani et Aphelinus certus pour la lutte au puceron du soya*. Mémoire de maîtrise. Sciences Biologiques Université de Montréal, Montréal, Canada.
- Gendron-St-Marseille, A.-F. 2013. *Le nématode à kystes du soja (Heterodera glycines) : Enjeux des changement climatiques sur sa distribution, sa reproduction et sur les probabilité de synchronisation avec le soja (Glycine max) au Québec*. Master. Biologie Université de Sherbrooke, Sherbrooke.
- Gendron-St-Marseille, A.-F. 2015. Communications personnelles
- Gheysen, G., et C. Fenoll. 2002. *Gene expression in nematode feeding sites*. Annual review of phytopathology **40**:191-219.
- GIEC. 2013. *Changement climatiques 2013: Les éléments scientifiques, Résumé à l'intention des décideurs, résumé technique et foire aux questions*. Cambridge, Royaume-Uni et New York, NY, États-Unis d'Amérique. 222
- Gilson, P., Y. M. Gaspar, D. Oxley, J. J. Youl, et A. Bacic. 2001. *NaAGP4 is an arabinogalactan protein whose expression is suppressed by wounding and fungal infection in Nicotiana glauca*. Protoplasma **215**:128-139.
- Glazebrook, J. 2005. *Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens*. Annu. Rev. Phytopathol. **43**:205-227.

- Goicoechea, N., M. Baslam, G. Erice, et J. J. Irigoyen. 2014. *Increased photosynthetic acclimation in alfalfa associated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and cultivated in greenhouse under elevated CO₂*. Journal of plant physiology **171**:1774-1781.
- Goverse, A., et D. Bird. 2011. *The role of plant hormones in nematode feeding cell formation*. Pages 325-347 in J. T. Jones, G. Gheysen, et C. Fenoll, editors. Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Goverse, A., et G. Smant. 2014. *The activation and suppression of plant innate immunity by parasitic nematodes*. Annual review of phytopathology **52**:243-265.
- Guo, H., Y. Sun, Y. Li, X. Liu, P. Wang, K. Zhy-Salzman, et F. Ge. 2014. *Elevated CO₂ alters the feeding behaviour of the pea aphid by modifying the physical and chemical resistance of Medicago truncatula*. Plant, Cell & Environment **37**:2158-2168.
- Guo, H., Y. Sun, Y. Li, B. Tong, M. Harris, K. Zhu-Salzman, et F. Ge. 2013. *Pea aphid promotes amino acid metabolism both in Medicago truncatula and bacteriocytes to favor aphid population growth under elevated CO₂*. Global Change Biology **19**:3210-3223.
- Halbrendt, J., S. Lewis, et E. Shipe. 1992. *A technique for evaluating Heterodera glycines development in susceptible and resistant soybean*. Journal of Nematology **24**:84.
- He, F., F. Yan, W. Xin, X. Li, Y. Wang, et G. Zhang. 1991. *Optimal spraying time and economic threshold of the soybean aphid*. Acta Phytopathol. Sin **18**:155-159.
- Heath, M. C. 2000. *Hypersensitive response-related death*. Pages 77-90 in E. Lam, H. Fukuda, et J. T. Greenberg, editors. Programmed Cell Death in Higher Plants. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Heeren, J., K. Steffey, N. Tinsley, R. Estes, T. Niblack, et M. Gray. 2012. *The interaction of soybean aphids and soybean cyst nematodes on selected resistant and susceptible soybean lines*. Journal of Applied Entomology **136**:646-655.
- Henfling, J., R. Bostock, et J. Kuc. 1980. *Effect of abscisic acid on rishitin and lubimin accumulation and resistance to Phytophthora infestans and Cladosporium cucumerinum in potato tuber tissue slices*. Phytopathology **70**:1074-1078.
- Henry, G., P. Thonart, et M. Ongena. 2012. *PAMPs, MAMPs, DAMPs and others: an update on the diversity of plant immunity elicitors*. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement **16**:257.
- Hewezi, T., et T. J. Baum. 2013. *Manipulation of plant cells by cyst and root-knot nematode effectors*. Molecular Plant-Microbe Interactions **26**:9-16.
- Hikosaka, K. 2004. *Interspecific difference in the photosynthesis–nitrogen relationship: patterns, physiological causes, and ecological importance*. Journal of plant research **117**:481-494.
- Hill, J., R. Alleman, D. Hogg, et C. Grau. 2001. *First report of transmission of soybean mosaic virus and alfalfa mosaic virus by Aphis glycines in the New World*. Plant Disease **85**:561.
- Hiltpold, I., M. Erb, C. A. Robert, et T. C. Turlings. 2011. *Systemic root signalling in a belowground, volatile-mediated tritrophic interaction*. Plant, Cell & Environment **34**:1267-1275.

- Hodge, S., T. Pope, M. Holaschke, et G. Powell. 2006. *The effect of β -aminobutyric acid on the growth of herbivorous insects feeding on Brassicaceae*. *Annals of Applied Biology* **148**:223-229.
- Hoffman, T., J. S. Schmidt, X. Zheng, et A. F. Bent. 1999. *Isolation of ethylene-insensitive soybean mutants that are altered in pathogen susceptibility and gene-for-gene disease resistance*. *Plant physiology* **119**:935-950.
- Hofmann, J., A. E. N. El Ashry, S. Anwar, A. Erban, J. Kopka, et F. Grundler. 2010. *Metabolic profiling reveals local and systemic responses of host plants to nematode parasitism*. *The Plant Journal* **62**:1058-1071.
- Hogenhout, S. A., R. A. L. Van der Hoorn, R. Terauchi, et S. Kamoun. 2009. *Emerging concepts in effector biology of plant-associated organisms*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **22**:115-122.
- Hol, W. G., W. De Boer, A. J. Termorshuizen, K. M. Meyer, J. H. Schneider, W. H. Van Der Putten, et N. M. Van Dam. 2013. *Heterodera schachtii nematodes interfere with aphid-plant relations on Brassica oleracea*. *Journal of chemical ecology* **39**:1193-1203.
- Hong, S., J. Donaldson, et C. Gratton. 2010. *Soybean cyst nematode effects on soybean aphid preference and performance in the laboratory*. *Environmental Entomology* **39**:1561-1569.
- Hong, S., A. Macguidwin, et C. Gratton. 2011. *Soybean aphid and soybean cyst nematode interactions in the field and effects on soybean yield*. *Journal of Economic Entomology* **104**:1568-1574.
- Horváth, E., G. Szalai, et T. Janda. 2007. *Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling*. *Journal of Plant Growth Regulation* **26**:290-300.
- Hoysted, G. A., C. J. Lilley, K. J. Field, M. Dickinson, S. E. Hartley, et P. E. Urwin. 2017. *A plant-feeding nematode indirectly increases the fitness of an aphid*. *Frontiers in plant science* **8**.
- Hua, J., et E. M. Meyerowitz. 1998. *Ethylene responses are negatively regulated by a receptor gene family in Arabidopsis thaliana*. *Cell* **94**:261-271.
- Huang, J., Y. J. Cardoza, E. A. Schmelz, R. Raina, J. Engelberth, et J. H. Tumlinson. 2003. *Differential volatile emissions and salicylic acid levels from tobacco plants in response to different strains of Pseudomonas syringae*. *Planta* **217**:767-775.
- Hughes, L., et F. A. Bazzaz. 2001. *Effects of elevated CO₂ on five plant-aphid interactions*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **99**:87-96.
- Hunter, M. D. 2001. *Effects of elevated atmospheric carbon dioxide on insect-plant interactions*. *Agricultural and Forest Entomology* **3**:153-159.
- Hutangura, P., U. Mathesius, M. G. Jones, et B. G. Rolfe. 1999. *Auxin induction is a trigger for root gall formation caused by root-knot nematodes in white clover and is associated with the activation of the flavonoid pathway*. *Functional Plant Biology* **26**:221-231.
- Inagaki, H., et M. Tsutsumi. 1971. *Survival of the soybean cyst nematode, Heterodera glycines Ichinohe (Tylenchida: Heteroderidae) under certain string conditions*. *Applied Entomology and Zoology* **6**:156-162.
- Jamieson, M. A., A. M. Trowbridge, K. F. Raffa, et R. L. Lindroth. 2012. *Consequences of climate warming and altered precipitation patterns for plant-insect and multitrophic interactions*. *Plant physiology* **160**:1719-1727.

- Janssen, R., J. Bakker, et F. J. Gommers. 1991. *Mendelian proof for a gene-for-gene relationship between virulence of Globodera rostochiensis and the H1 resistance gene in Solanum tuberosum ssp. andigena CPC 1673*. Rev. Nematol **14**:213-219.
- Jean, C., L. Belzile, G. Labrie, C. Parent, et M. Roy. 2010. *Lutte intégrée contre le puceron du soya*. Fédération des producteurs de cultures commerciales du Québec (FPCCQ), Agriréseau.
- Jiao, Y., O. S. Lau, et X. W. Deng. 2007. *Light-regulated transcriptional networks in higher plants*. Nature Reviews Genetics **8**:217.
- Johnson, E. T., et P. F. Dowd. 2004. *Differentially enhanced insect resistance, at a cost, in Arabidopsis thaliana constitutively expressing a transcription factor of defensive metabolites*. Journal of agricultural and food chemistry **52**:5135-5138.
- Johnson, S. N., K. E. Clark, S. E. Hartley, T. H. Jones, S. W. McKenzie, et J. Koricheva. 2012. *Aboveground-belowground herbivore interactions: a meta-analysis*. Ecology **93**:2208-2215.
- Johnson, S. N., et P. J. Murray. 2008. *Root feeders: an ecosystem perspective*. Cabi
- Johnson, S. N., J. M. W. Ryalls, et A. J. Karley. 2014. *Global climate change and crop resistance to aphids: contrasting responses of lucerne genotypes to elevated atmospheric carbon dioxide*. Annals of Applied Biology **165**:62-72.
- Jones, J. D., et J. L. Dangl. 2006. *The plant immune system*. Nature **444**:323-329.
- Jones, J. T., C. Furlanetto, et M. S. Phillips. 2007. *The role of flavonoids produced in response to cyst nematode infection of Arabidopsis thaliana*. Nematology **9**:671-677.
- Jones, S. I., et L. O. Vodkin. 2013. *Using RNA-Seq to profile soybean seed development from fertilization to maturity*. PloS one **8**:e59270.
- Jung, H. W., T. J. Tschaplinski, L. Wang, J. Glazebrook, et J. T. Greenberg. 2009. *Priming in systemic plant immunity*. Science **324**:89-91.
- Kammerhofer, N., Z. Radakovic, J. Regis, P. Dobrev, R. Vankova, F. M. Grundler, S. Siddique, J. Hofmann, et K. Wiczorek. 2015. *Role of stress-related hormones in plant defence during early infection of the cyst nematode Heterodera schachtii in Arabidopsis*. New Phytologist **207**:778-789.
- Kanemoto, K., Y. Yamashita, T. Ozawa, N. Imanishi, N. T. Nguyen, R. Suwa, P. K. Mohapatra, S. Kanai, R. E. Moghaieb, et J. Ito. 2009. *Photosynthetic acclimation to elevated CO₂ is dependent on N partitioning and transpiration in soybean*. Plant science **177**:398-403.
- Kaplan, I., R. Halitschke, A. Kessler, S. Sardanelli, et R. F. Denno. 2008. *Constitutive and induced defenses to herbivory in above-and belowground plant tissues*. Ecology **89**:392-406.
- Kassanis, B. 1952. *Some factors affecting the transmission of leaf-roll virus by aphids*. Annals of Applied Biology **39**:157-167.
- Katagiri, F., et K. Tsuda. 2010. *Understanding the plant immune system*. Molecular Plant-Microbe Interactions **23**:1531-1536.
- Kawano, T. 2003. *Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction*. Plant cell reports **21**:829-837.
- Kawano, T., et S. Muto. 2000. *Mechanism of peroxidase actions for salicylic acid-induced generation of active oxygen species and an increase in cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture*. Journal of experimental botany **51**:685-693.

- Kim, K.-S., C. B. Hill, G. L. Hartman, M. A. R. Mian, et B. W. Diers. 2008. Discovery of Soybean Aphid Biotypes Crop Science **48**:923-928.
- Kim, K., et R. Riggs. 1992. *Cytopathological reactions of resistant soybean plants to nematode invasion*. Pages 157-168 in D. P. Schmitt, J. A. Wrather, et R. D. Riggs, editors. Biology and management of the soybean cyst nematode. Schmitt & Associates of Marceline, St. Paul.
- Kim, Y., R. Riggs, et K. Kim. 1987. *Structural changes associated with resistance of soybean to Heterodera glycines*. Journal of Nematology **19**:177.
- Klink, V., P. Hosseini, P. Matsye, N. Alkharouf, et B. Matthews. 2009a. A gene expression analysis of syncytia laser microdissected from the roots of the Glycine max (soybean) genotype PI 548402 (Peking) undergoing a resistant reaction after infection by Heterodera glycines (soybean cyst nematode). Plant Molecular Biology **71**:525-567.
- Klink, V., P. Hosseini, P. Matsye, N. Alkharouf, et B. Matthews. 2011. *Differences in gene expression amplitude overlie a conserved transcriptomic program occurring between the rapid and potent localized resistant reaction at the syncytium of the Glycine max genotype Peking (PI 548402) as compared to the prolonged and potent resistant reaction of PI 88788*. Plant Molecular Biology **75**:141-165.
- Klink, V. P., P. Hosseini, P. Matsye, N. W. Alkharouf, et B. F. Matthews. 2009b. A gene expression analysis of syncytia laser microdissected from the roots of the Glycine max (soybean) genotype PI 548402 (Peking) undergoing a resistant reaction after infection by Heterodera glycines (soybean cyst nematode). Plant molecular biology **71**:525-567.
- Klink, V. P., P. Hosseini, P. D. Matsye, N. W. Alkharouf, et B. F. Matthews. 2010. *Syncytium gene expression in Glycine max[PI 88788] roots undergoing a resistant reaction to the parasitic nematode Heterodera glycines*. Plant Physiology and Biochemistry **48**:176-193.
- Kobe, B., et A. V. Kajava. 2001. *The leucine-rich repeat as a protein recognition motif*. Current Opinion in Structural Biology **11**:725-732.
- Krupke, C. H., A. M. Alford, E. M. Cullen, E. W. Hodgson, J. J. Knodel, B. McCornack, B. D. Potter, M. I. Spigler, K. Tilmon, et K. Welch. 2017. *Assessing the value and pest management window provided by neonicotinoid seed treatments for management of soybean aphid (Aphis glycines Matsumura) in the Upper Midwestern United States*. Pest management science **73**:2184-2193.
- Kubigsteltig, I., D. Laudert, et E. Weiler. 1999. *Structure and regulation of the Arabidopsis thaliana allene oxide synthase gene*. Planta **208**:463-471.
- Kunkel, B. N., et D. M. Brooks. 2002. *Cross talk between signaling pathways in pathogen defense*. Current opinion in plant biology **5**:325-331.
- Kutyniok, M., et C. Müller. 2013. *Plant-mediated interactions between shoot-feeding aphids and root-feeding nematodes depend on nitrate fertilization*. Oecologia **173**:1367-1377.
- Landsberg, H. E. 1970. *Man-Made Climatic Changes: Man's activities have altered the climate of urbanized areas and may affect global climate in the future*. Science **170**:1265-1274.
- Lawton, K. A., S. L. Potter, S. Uknes, et J. Ryals. 1994. *Acquired resistance signal transduction in Arabidopsis is ethylene independent*. The Plant Cell **6**:581-588.
- Liao, Y., H.-F. Zou, H.-W. Wang, W.-K. Zhang, B. Ma, J.-S. Zhang, et S.-Y. Chen. 2008. *Soybean GmMYB76, GmMYB92, and GmMYB177 genes confer stress tolerance in transgenic Arabidopsis plants*. Cell research **18**:1047-1060.

- Liu, C., et M. C. Mehdy. 2007. *A nonclassical arabinogalactan protein gene highly expressed in vascular tissues, AGP31, is transcriptionally repressed by methyl jasmonic acid in Arabidopsis*. Plant physiology **145**:863-874.
- Llewellyn, M., et A. Qureshi. 1978. *The energetics and growth efficiency of Aphis fabae Scop. reared on different parts of the broad bean plant (Vicia faba)*. Entomologia Experimentalis et Applicata **23**:26-39.
- Loake, G., et M. Grant. 2007. *Salicylic acid in plant defence—the players and protagonists*. Current opinion in plant biology **10**:466-472.
- Lorenzo, O., J. M. Chico, J. J. Sánchez-Serrano, et R. Solano. 2004. *Jasmonate-insensitive1 encodes a MYC transcription factor essential to discriminate between different jasmonate-regulated defense responses in Arabidopsis*. The Plant Cell **16**:1938-1950.
- Love, M. I., W. Huber, et S. Anders. 2014. *Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2*. Genome Biology **15**:550.
- Lund, S. T., R. E. Stall, et H. J. Klee. 1998. *Ethylene regulates the susceptible response to pathogen infection in tomato*. The Plant Cell **10**:371-382.
- Macedo, T., C. Bastos, L. Higley, K. Ostlie, et S. Madhavan. 2003. *Photosynthetic responses of soybean to soybean aphid (Homoptera: Aphididae) injury*. Journal of Economic Entomology **96**:188-193.
- Maisonhaute, J.-É., G. Labrie, et E. Lucas. 2016. Population dynamics of the soybean aphid (Hemiptera: Aphididae) in Quebec (Canada). Journal of Economic Entomology **109**:1465-1468.
- Manosalva, P., M. Manohar, S. H. von Reuss, S. Chen, A. Koch, F. Kaplan, A. Choe, R. J. Micikas, X. Wang, et K.-H. Kogel. 2015. *Conserved nematode signalling molecules elicit plant defenses and pathogen resistance*. Nature communications **6**.
- Masters, G., et V. Brown. 1992. *Plant-mediated interactions between two spatially separated insects*. Functional Ecology:175-179.
- McCarville, M., M. O'Neal, G. Tylka, C. Kanobe, et G. MacIntosh. 2012. *A nematode, fungus, and aphid interact via a shared host plant: implications for soybean management*. Entomologia Experimentalis et Applicata **143**:55-66.
- McCarville, M. T. 2014. *Integrating soybean aphid and soybean cyst nematode management*. PhD. Entomology Iowa State University.
- McCarville, M. T., D. H. Soh, G. L. Tylka, et M. E. O'Neal. 2014. *Aboveground feeding by soybean aphid, Aphis glycines, affects soybean cyst nematode, Heterodera glycines, reproduction belowground*. PloS one **9**:e86415.
- McCornack, B., D. Ragsdale, et R. Venette. 2004. *Demography of soybean aphid (Homoptera: Aphididae) at summer temperatures*. Journal of Economic Entomology **97**:854-861.
- McCornack, B. P., et D. W. Ragsdale. 2006. *Efficacy of thiamethoxam to suppress soybean aphid populations in Minnesota soybean*. Crop Management **5**.
- McDonald, K. L., et D. M. Cahill. 1999. *Influence of abscisic acid and the abscisic acid biosynthesis inhibitor, norflurazon, on interactions between Phytophthora sojae and soybean (Glycine max)*. European Journal of Plant Pathology **105**:651-658.
- McKenzie, S. W., W. T. Hentley, R. S. Hails, T. H. Jones, A. J. Vanbergen, et S. N. Johnson. 2013. *Global climate change and above-belowground insect herbivore interactions*. Frontiers in plant science **4**.
- McWilliams, D., D. Berglund, et G. Endres. 2009. *Soybean growth and management quick guide*. in N. D. S. University, editor. NDSU Extension Service, Fargo.

- Miersch, O., et C. Wasternack. 2000. *Octadecanoid and jasmonate signaling in tomato (Lycopersicon esculentum Mill.) leaves: endogenous jasmonates do not induce jasmonate biosynthesis*. Biological chemistry **381**:715-722.
- Mignault, M.-P., M. Roy, et J. Brodeur. 2006. *Soybean aphid predators in Quebec and the suitability of Aphis glycines as prey for three Coccinellidae*. BioControl **51**:89-106.
- Mills, K. 2011. *TLR-dependent T Cell activation in autoimmunity*. Nature Reviews Immunology **11**:807-822.
- Mimee, B., A.-È. Gagnon, K. Colton-Gagon, et É. Tremblay. 2016. *Portrait de la situation du nématode à kyste du soja (Heterodera glycines) au Québec (2013-2015)*. Phytprotection **96**:33-42.
- Mimee, B., H. Peng, V. Popovic, Q. Yu, M.-O. Duceppe, M.-P. Tétreault, et G. Belair. 2014. *First report of soybean cyst nematode (Heterodera glycines Ichinohe) on soybean in the Province of Quebec, Canada*. Plant Disease **98**:429-429.
- Mohr, P. G., et D. M. Cahill. 2003. *Abscisic acid influences the susceptibility of Arabidopsis thaliana to Pseudomonas syringae pv. tomato and Peronospora parasitica*. Functional Plant Biology **30**:461-469.
- Moran, P. J., et G. A. Thompson. 2001. *Molecular Responses to Aphid Feeding in Arabidopsis in Relation to Plant Defense Pathways*. Plant physiology **125**:1074-1085.
- Morrison, M. J., H. D. Voldeng, et E. R. Cober. 1999. *Physiological changes from 58 years of genetic improvement of short-season soybean cultivars in Canada*. Agronomy Journal **91**:685-689.
- Munger, P., H. Bleiholder, H. Hack, M. Hess, R. Stauss, T. Boom, et E. Weber. 1997. *Phenological growth stages of the soybean plant (Glycine max L. Merr.): codification and description according to the BBCH scale*. Journal of Agronomy and Crop Science **179**:209-217.
- Navarro, L., R. Bari, P. Achard, P. Lisón, A. Nemri, N. P. Harberd, et J. D. Jones. 2008. *DELLAs control plant immune responses by modulating the balance of jasmonic acid and salicylic acid signaling*. Current Biology **18**:650-655.
- Nawrath, C., S. Heck, N. Parinshawong, et J.-P. Métraux. 2002. *EDS5, an essential component of salicylic acid-dependent signaling for disease resistance in Arabidopsis, is a member of the MATE transporter family*. The Plant Cell **14**:275-286.
- Neher, D. A., T. R. Weicht, D. L. Moorhead, et R. L. Sinsabaugh. 2004. *Elevated CO₂ alters functional attributes of nematode communities in forest soils*. Functional Ecology **18**:584-591.
- Newman, J. A., D. J. Gibson, A. J. Parsons, et J. H. M. Thornley. 2003. *How predictable are aphid population responses to elevated CO₂?* Journal of Animal Ecology **72**:556-566.
- Ng, A., et R. J. Xavier. 2011. *Leucine-rich repeat (LRR) proteins: integrators of pattern recognition and signaling in immunity*. Autophagy **7**:1082-1084.
- Nguema-Ona, E., M. Vité-Gibouin, M.-A. Cannesan, et A. Driouich. 2013. *Arabinogalactan proteins in root-microbe interactions*. Trends in plant science **18**:440-449.
- Nguyen, C. 2003. *Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls*. Agronomie **23**:375-396.
- Niblack, T. 2005. *Soybean cyst nematode management reconsidered*. Plant Disease **89**:1020-1026.

- Niblack, T., P. Arelli, G. Noel, C. Opperman, J. Orf, D. Schmitt, J. Shannon, et G. Tylka. 2002. *A revised classification scheme for genetically diverse populations of Heterodera glycines*. Journal of Nematology **34**:279.
- Niblack, T., G. L. Tylka, P. Arelli, J. Bond, B. Diers, P. Donald, J. Faghihi, et V. Ferris. 2009. *A standard greenhouse method for assessing soybean cyst nematode resistance in soybean: SCE08 (standardized cyst evaluation 2008)*. Plant Health Progress:10-194.
- Niki, T., I. Mitsuhashi, S. Seo, N. Ohtsubo, et Y. Ohashi. 1998. *Antagonistic effect of salicylic acid and jasmonic acid on the expression of pathogenesis-related (PR) protein genes in wounded mature tobacco leaves*. Plant and Cell Physiology **39**:500-507.
- Noel, G., et D. Edwards. 1996. *Population development of Heterodera glycines and soybean yield in soybean-maize rotations following introduction into a noninfested field*. Journal of Nematology **28**:335.
- Nombela, G., V. M. Williamson, et M. Muñiz. 2003. *The root-knot nematode resistance gene Mi-1.2 of tomato is responsible for resistance against the whitefly Bemisia tabaci*. Molecular Plant-Microbe Interactions **16**:645-649.
- Norman-Setterblad, C., S. Vidal, et E. T. Palva. 2000. *Interacting signal pathways control defense gene expression in Arabidopsis in response to cell wall-degrading enzymes from Erwinia carotovora*. Molecular Plant-Microbe Interactions **13**:430-438.
- O'Donnell, P. J., J. B. Jones, F. R. Antoine, J. Ciardi, et H. J. Klee. 2001. *Ethylene-dependent salicylic acid regulates an expanded cell death response to a plant pathogen*. The Plant Journal **25**:315-323.
- O'Neill, B. F., A. R. Zangerl, E. H. DeLucia, C. Casteel, J. A. Zavala, et M. R. Berenbaum. 2011. *Leaf temperature of soybean grown under elevated CO₂ increases Aphis glycines (Hemiptera: Aphididae) population growth*. Insect Science **18**:419-425.
- Ostlie, K. 2001. *Soybean aphid reduces yields: harvest results from insecticide strip trials*. Entomology University of Minnesota, St. Paul, MN.
- Ouranos. 2015. *Vers l'adaptation. Synthèse des connaissances sur les changements climatiques au Québec*. Montréal, Québec.415 p
- Pajerowska-Mukhtar, K. M., W. Wang, Y. Tada, N. Oka, C. L. Tucker, J. P. Fonseca, et X. Dong. 2012. *The HSF-like transcription factor TBF1 is a major molecular switch for plant growth-to-defense transition*. Current Biology **22**:103-112.
- Paré, P. W., et J. H. Tumlinson. 1999. *Plant volatiles as a defense against insect herbivores*. Plant physiology **121**:325-332.
- Park, J.-E., J.-Y. Park, Y.-S. Kim, P. E. Staswick, J. Jeon, J. Yun, S.-Y. Kim, J. Kim, Y.-H. Lee, et C.-M. Park. 2007. *GH3-mediated auxin homeostasis links growth regulation with stress adaptation response in Arabidopsis*. Journal of Biological Chemistry **282**:10036-10046.
- Peterhansel, C., A. Freialdenhoven, J. Kurth, R. Kolsch, et P. Schulze-Lefert. 1997. *Interaction analyses of genes required for resistance responses to powdery mildew in barley reveal distinct pathways leading to leaf cell death*. The Plant Cell **9**:1397-1409.
- Pollard, D. 1973. *Plant penetration by feeding aphids (Hemiptera, Aphidoidea): a review*. Bulletin of Entomological Research **62**:631-714.
- Producteurs de Grains du Québec. 2018. *Tendances des prix du maïs et du soya au Québec - Février 2018*. <http://www.pgq.ca/articles/services-dinformation-sur-les-marches/les-analyses/tendances-des-prix-du-mais-et-du-soya-au-quebec-fevrier-2018/>. [27-02-2018]

- R Development Core Team. 2018. *R 3.4.4*. R Project for Statistical Computing Vienna, Austria.
- Ragsdale, D., B. McCornack, R. Venette, B. Potter, I. V. MacRae, E. W. Hodgson, M. E. O'Neal, K. D. Johnson, R. O'neil, et C. DiFonzo. 2007. *Economic threshold for soybean aphid* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology* **100**:1258-1267.
- Ragsdale, D. W., D. A. Landis, J. Brodeur, G. E. Heimpel, et N. Desneux. 2011. *Ecology and management of the soybean aphid in North America*. *Annual review of entomology* **56**:375-399.
- Ragsdale, D. W., D. J. Voegtlin, et R. J. O'neil. 2004. *Soybean aphid biology in North America*. *Annals of the Entomological Society of America* **97**:204-208.
- Ranocha, P., M. Chabannes, S. Chamayou, S. Danoun, A. Jauneau, A.-M. Boudet, et D. Goffner. 2002. *Laccase down-regulation causes alterations in phenolic metabolism and cell wall structure in poplar*. *Plant physiology* **129**:145-155.
- Rao-Arelli, A., S. C. Anand, et A. J. Wrather. 1992. *Soybean resistance to soybean cyst nematode race 3 is conditioned by an additional dominant gene*. *Crop Science* **32**:862-864.
- Rashid, A. 2016. *Defense responses of plant cell wall non-catalytic proteins against pathogens*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **94**:38-46.
- Rasmann, S., et T. C. Turlings. 2007. *Simultaneous feeding by aboveground and belowground herbivores attenuates plant-mediated attraction of their respective natural enemies*. *Ecology Letters* **10**:926-936.
- Rhainds, M., M. Roy, G. Daigle, et J. Brodeur. 2007. *Toward management guidelines for the soybean aphid in Quebec. Feeding damage in relationship to seasonality of infestation and incidence of native predators*. *The Canadian Entomologist* **139**:728-741.
- Riggs, R., K. Kim, et I. Gipson. 1973. *Ultrastructural changes in Peking soybeans infected with Heterodera glycines*. *Phytopathology* **63**:76-84.
- Riggs, R. D., et D. P. Schmitt. 1988. *Complete characterization of the race scheme for Heterodera glycines*. *Journal of Nematology* **20**:392-395.
- Rioux, S., R. Michelutti, M. Roy, J. Brodeur, et C. Parent. 2008. *Depistage de maladies virales dans les champs de soya du Quebec: bilan 2003-2007*.
- Robert-Seilanianz, A., M. Grant, et J. D. Jones. 2011a. *Hormone crosstalk in plant disease and defense: more than just jasmonate-salicylate antagonism*. *Annual review of phytopathology* **49**:317-343.
- Robert-Seilanianz, A., D. MacLean, Y. Jikumaru, L. Hill, S. Yamaguchi, Y. Kamiya, et J. D. G. Jones. 2011b. *The microRNA miR393 re-directs secondary metabolite biosynthesis away from camalexin and towards glucosinolates*. *The Plant Journal* **67**:218-231.
- Roberts, P. A. 1982. *Plant resistance in nematode pest management*. *Journal of Nematology* **14**:24.
- Robinson, M. D., D. J. McCarthy, et G. K. Smyth. 2010. *edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data*. *Bioinformatics* **26**:139-140.
- Rossi, M., F. L. Goggin, S. B. Milligan, I. Kaloshian, D. E. Ullman, et V. M. Williamson. 1998. *The nematode resistance gene Mi of tomato confers resistance against the potato aphid*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **95**:9750-9754.

- Roy, M. 2003. *Mise au point sur un ravageur du soya récemment introduit au Québec: Le puceron du soya*. Agri-Réseau **5**.
- Ryals, J. A., U. H. Neuenschwander, M. G. Willits, A. Molina, H. Y. Steiner, et M. D. Hunt. 1996. *Systemic Acquired Resistance*. The Plant Cell **8**:1809-1819.
- SAGe Pesticides. 2018. *Traitements phytosanitaires et risques associés des insecticides foliaires dans la culture du soya contre le puceron du soya*. <https://www.sagepesticides.qc.ca/Recherche/Resultats?clang=fr&cu=Soya&cid=51&elang=fr&tt=4&el=216%3F1&ta=1&pc=6&p=1&tab=1>. [07/03/2018]
- Scheirer, C. J., W. S. Ray, et N. Hare. 1976. *The analysis of ranked data derived from completely randomized factorial designs*. Biometrics:429-434.
- Schmitt, D. P., et G. Shannon. 1992. *Differentiating soybean responses to Heterodera Glycines races*. Crop Science **32**:275-277.
- Schnitkey, G. 2016. *Corn versus soybean returns: 2016 projections with historical comparisons*. farmdoc daily
- Schroeder, F. C. 2015. *Modular assembly of primary metabolic building blocks: A chemical language in C. elegans*. Chemistry & biology **22**:7-16.
- Seagraves, M. P., et J. G. Lundgren. 2012. *Effects of neonicotinoid seed treatments on soybean aphid and its natural enemies*. Journal of Pest Science **85**:125-132.
- SECAN. 2018. *OAC Wallace, Technical Bulletin*. <https://www.secan.com/varieties/oac-wallace>. [13/03/2018]
- Seifert, G. J., et K. Roberts. 2007. *The biology of arabinogalactan proteins*. Annu. Rev. Plant Biol. **58**:137-161.
- Selig, P., S. Keough, V. J. Nalam, et P. Nachappa. 2016. *Jasmonate-dependent plant defenses mediate soybean thrips and soybean aphid performance on soybean*. Arthropod-Plant Interactions **10**:273-282.
- Seskar, M., V. Shulaev, et I. Raskin. 1998. *Endogenous methyl salicylate in pathogen-inoculated tobacco plants*. Plant physiology **116**:387-392.
- Shah, J. 2003. *The salicylic acid loop in plant defense*. Current opinion in plant biology **6**:365-371.
- Shailasree, S., K. R. Kini, S. Deepak, B. S. Kumudini, et H. S. Shetty. 2004. *Accumulation of hydroxyproline-rich glycoproteins in pearl millet seedlings in response to Sclerospora graminicola infection*. Plant science **167**:1227-1234.
- Shulaev, V., P. Silverman, et I. Raskin. 1997. *Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance*. Nature **385**:718-721.
- Smith, C. M., et E. V. Boyko. 2007. *The molecular bases of plant resistance and defense responses to aphid feeding: current status*. Entomologia Experimentalis et Applicata **122**:1-16.
- Sobczak, M., A. Avrova, J. Jupowicz, M. S. Phillips, K. Ernst, et A. Kumar. 2005. *Characterization of susceptibility and resistance responses to potato cyst nematode (Globodera spp.) infection of tomato lines in the absence and presence of the broad-spectrum nematode resistance Hero gene*. Molecular Plant-Microbe Interactions **18**:158-168.
- Sobczak, M. W., Golinoski. 2011. *Cyst nematodes and syncytia*. Pages 61-82 in J. e. al, editor. Genomic and Molecular Genetics of Plant-Parasitic Nematodes Interactions. Springer Science et Business Media.

- Soler, R., T. Bezemer, W. H. Van Der Putten, L. E. Vet, et J. A. Harvey. 2005. *Root herbivore effects on above-ground herbivore, parasitoid and hyperparasitoid performance via changes in plant quality*. *Journal of Animal Ecology* **74**:1121-1130.
- Soler, R., M. Erb, et I. Kaplan. 2013. *Long distance root-shoot signalling in plant-insect community interactions*. *Trends in plant science* **18**:149-156.
- Soler, R., J. A. Harvey, T. M. Bezemer, et J. F. Stuefer. 2008. *Plants as green phone: Novel insights into plant-mediated communication between below-and aboveground insects*. *Plant signaling & behavior* **3**:519-520.
- Song, F., S. M. Swinton, C. DiFonzo, M. O'Neal, et D. W. Ragsdale. 2006. Profitability analysis of soybean aphid control treatments in three north-central states. Michigan State University, Department of Agricultural, Food, and Resource Economics, East Lansing, Michigan
- Soriano, I., R. Asenstorfer, O. Schmidt, et I. Riley. 2004. *Inducible flavone in oats (Avena sativa) is a novel defense against plant-parasitic nematodes*. *Phytopathology* **94**:1207-1214.
- Statistiques Canada. 2017. *Table 001-0017 - Estimated areas, yield, production, average farm price and total farm value of principal field crops, in metric and imperial units*. CANSIM (database).
- Stiling, P., et T. Cornelissen. 2007. *How does elevated carbon dioxide (CO₂) affect plant-herbivore interactions? A field experiment and meta-analysis of CO₂- mediated changes on plant chemistry and herbivore performance*. *Global Change Biology* **13**:1823-1842.
- Sturhan, D. 1985. *Species, subspecies, race and pathotype problems in nematodes*. *EPPO Bulletin* **15**:139-144.
- Sulieman, S., N. Thao, et L.-S. Tran. 2015. *Does elevated CO₂ provide real benefits for N₂-fixing leguminous symbioses?* Pages 89-112 in S. Sulieman et L.-S. P. Tran, editors. *Legume Nitrogen Fixation in a Changing Environment*. Springer International Publishing.
- Sun, Y., J. Yin, H. Cao, C. Li, L. Kang, et F. Ge. 2011. Elevated CO₂ Influences Nematode-Induced Defense Responses of Tomato Genotypes Differing in the JA Pathway. *PloS one* **6**:e19751.
- Teixeira, E. I., G. Fischer, H. van Velthuisen, C. Walter, et F. Ewert. 2013. *Global hot-spots of heat stress on agricultural crops due to climate change*. *Agricultural and Forest Meteorology* **170**:206-215.
- Terashima, I., S. Yanagisawa, et H. Sakakibara. 2014. *Plant responses to CO₂: Background and perspectives*. *Plant and Cell Physiology* **55**:237-240.
- Thomma, B. P., K. Eggermont, K. F.-J. Tierens, et W. F. Broekaert. 1999. *Requirement of functional ethylene-insensitive 2 gene for efficient resistance of Arabidopsis to infection by Botrytis cinerea*. *Plant physiology* **121**:1093-1101.
- Thompson, G. A., et F. L. Goggin. 2006. *Transcriptomics and functional genomics of plant defence induction by phloem-feeding insects*. *Journal of experimental botany* **57**:755-766.
- Tilmon, K., E. Hodgson, M. O'Neal, et D. Ragsdale. 2011. *Biology of the soybean aphid, Aphis glycines (Hemiptera: Aphididae) in the United States*. *Journal of Integrated Pest Management* **2**:A1-A7.

- Ton, J., V. Flors, et B. Mauch-Mani. 2009. *The multifaceted role of ABA in disease resistance*. Trends in plant science **14**:310-317.
- Trapnell, C., L. Pachter, et S. L. Salzberg. 2009. *TopHat: discovering splice junctions with RNA-Seq*. Bioinformatics **25**:1105-1111.
- Truman, W., M. T. Zabala, et M. Grant. 2006. *Type III effectors orchestrate a complex interplay between transcriptional networks to modify basal defence responses during pathogenesis and resistance*. The Plant Journal **46**:14-33.
- Tylka, G. L. 2016. Communications personnelles
- Tylka, G. L., et C. C. Marett. 2017. *Known distribution of the soybean cyst nematode, Heterodera glycines, in the United States and Canada, 1954 to 2017*. Plant Health Progress **18**:167-168.
- USDA. 2017. Soybeans and oil crops, related data and statistics. in E. R. S. United States Department of Agriculture, editor.
- Van Dam, N. M., et M. Heil. 2011. *Multitrophic interactions below and above ground: en route to the next level*. Journal of Ecology **99**:77-88.
- Van Dam, N. M., C. E. Raaijmakers, et W. H. Van Der Putten. 2005. *Root herbivory reduces growth and survival of the shoot feeding specialist Pieris rapae on Brassica nigra*. Entomologia Experimentalis et Applicata **115**:161-170.
- Van der Putten, W. H., L. E. Vet, J. A. Harvey, et F. L. Wäckers. 2001. *Linking above-and belowground multitrophic interactions of plants, herbivores, pathogens, and their antagonists*. Trends in Ecology & Evolution **16**:547-554.
- Voegtlin, D. J., R. J. O'neil, W. R. Graves, D. Lagos, et H. J. S. Yoo. 2005. *Potential winter hosts of soybean aphid*. Annals of the Entomological Society of America **98**:690-693.
- Voldeng, H. D., E. R. Cober, D. J. Hume, C. Gillard, et M. J. Morrison. 1997. *Fifty-eight years of genetic improvement of short-season soybean cultivars in Canada*. Crop Science **37**:428-431.
- Wang, C., N. Siang, G. Chang, et H. CHD. 1962. *Studies on the soy-bean aphid, Aphis glycines Matsumura*. Acta Entomologica Sinica **11**:31-44.
- Wang, J., T. Niblack, J. Tremain, W. Wiebold, G. Tylka, C. Marett, G. Noel, O. Myers, et M. Schmidt. 2003. *Soybean cyst nematode reduces soybean yield without causing obvious aboveground symptoms*. Plant Disease **87**:623-628.
- Ward, E. R., S. J. Uknes, S. C. Williams, S. S. Dincher, D. L. Wiederhold, D. C. Alexander, P. Ahl-Goy, J. P. Metraux, et J. A. Ryals. 1991. *Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance*. The Plant Cell **3**:1085-1094.
- Ward, E. W., D. M. Cahill, et M. K. Bhattacharyya. 1989. *Abscissic acid suppression of phenylalanine ammonia-lyase activity and mRNA, and resistance of soybeans to Phytophthora megasperma f. sp. glycinea*. Plant physiology **91**:23-27.
- Wasson, A. P., K. Ramsay, M. G. Jones, et U. Mathesius. 2009. *Differing requirements for flavonoids during the formation of lateral roots, nodules and root knot nematode galls in Medicago truncatula*. New Phytologist **183**:167-179.
- Wilcoxon, F. 1945. *Individual comparisons by ranking methods*. Biometrics bulletin **1**:80-83.
- Winstead, N., C. Skotland, et J. Sasser. 1955. *Soybean cyst nematode in North Carolina*. Plant Disease Reporter **39**:9-11.
- Wondrafrash, M., N. M. Van Dam, et T. O. Tytgat. 2013. *Plant systemic induced responses mediate interactions between root parasitic nematodes and aboveground herbivorous insects*. Frontiers in plant science **4**.

- Wrather, J., et S. Koenning. 2009. *Effects of diseases on soybean yields in the United States 1996 to 2007*. Plant Health Progress.
- Wubben, M. J. E., J. Jin, et T. J. Baum. 2008. *Cyst nematode parasitism of Arabidopsis thaliana is inhibited by salicylic acid (SA) and elicits uncoupled SA-independent pathogenesis-related gene expression in roots*. Molecular Plant-Microbe Interactions **21**:424-432.
- Wurst, S., et W. H. van der Putten. 2007. *Root herbivore identity matters in plant-mediated interactions between root and shoot herbivores*. Basic and Applied Ecology **8**:491-499.
- Wyss, U., et F. M. W. Grundler. 1992. *Feeding behavior of sedentary plant parasitic nematodes*. Netherlands Journal of Plant Pathology **98**:165-173.
- Xia, Y., H. Suzuki, J. Borevitz, J. Blount, Z. Guo, K. Patel, R. A. Dixon, et C. Lamb. 2004. *An extracellular aspartic protease functions in Arabidopsis disease resistance signaling*. The EMBO journal **23**:980-988.
- Yalpani, N., P. Silverman, T. Wilson, D. A. Kleier, et I. Raskin. 1991. *Salicylic acid is a systemic signal and an inducer of pathogenesis-related proteins in virus-infected tobacco*. The Plant Cell **3**:809-818.
- Yang, Y., M. Qi, et C. Mei. 2004. *Endogenous salicylic acid protects rice plants from oxidative damage caused by aging as well as biotic and abiotic stress*. The Plant Journal **40**:909-919.
- Yeates, G. W., K. R. Tate, et P. C. D. Newton. 1997. *Response of the fauna of a grassland soil to doubling of atmospheric carbon dioxide concentration*. Biology and Fertility of Soils **25**:307-315.
- Young, L. 1996. *Yield loss in soybean caused by Heterodera glycines*. Journal of Nematology **28**:604.
- Zadoks, J. C., T. T. Chang, et C. F. Konzak. 1974. *A decimal code for the growth stages of cereals*. Weed Research **14**:415-421.
- Zavala, J. A., P. D. Nabity, et E. H. DeLucia. 2013. *An emerging understanding of mechanisms governing insect herbivory under elevated CO₂*. Annual review of entomology **58**:79-97.
- Zhang, Y., L. Wang, K. Wu, K. A. Wyckhuys, et G. E. Heimpel. 2008. *Flight performance of the soybean aphid, Aphis glycines (Hemiptera: Aphididae) under different temperature and humidity regimens*. Environmental Entomology **37**:301-306.
- Zhao, D., K. R. Reddy, V. G. Kakani, et V. Reddy. 2005. *Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum*. European journal of agronomy **22**:391-403.
- Zhu-Salzman, K., R. A. Salzman, J.-E. Ahn, et H. Koiwa. 2004. *Transcriptional regulation of sorghum defense determinants against a phloem-feeding aphid*. Plant physiology **134**:420-431.

